

**ZUM VORKOMMEN VON ENTEROBACTERIACEAE
IN MILCH UND MILCHPRODUKTEN
UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG
DER COLIFORMEN UND „FÄKALCOLIFORMEN“**

HUBERT DIEPOLDER

*Diss
München
1906*

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl: Prof. Dr. G. Terplan)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Zum Vorkommen von Enterobacteriaceae
in Milch und Milchprodukten
unter besonderer Berücksichtigung
der Coliformen und "Fäkalcoliformen"

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hubert Diepolder
aus
Freising

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. G. Terplan

Korreferent: Prof. Dr. H. Mahnel

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

Meinen Eltern und meiner Franziska

Meinen Eltern

Meiner Franziska

1.1.1. Mein Vater

1.1.2. Meine Mutter

1.1.3. Mein Großvater

1.1.4. Meine Großmutter

1.1.5. Mein Onkel

1.1.6. Meine Tante

1.1.7. Mein Bruder

1.1.8. Meine Schwester

1.1.9. Mein Cousin

1.1.10. Meine Cousine

1.1.11. Mein Nephew

1.1.12. Meine Niece

1.1.13. Mein Neffe

1.1.14. Meine Nichte

1.1.15. Mein Enkel

1.1.16. Meine Enkelin

1.1.17. Mein Urenkel

1.1.18. Meine Urenkelin

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
1. Einleitung	1
2. Schrifttum	2
2.1 Bedeutung von Enterobacteriaceae in Milch und Milchprodukten	2
2.1.1 Minderung von Qualität und Haltbarkeit	2
2.1.2 Enterobacteriaceae als Marker-Keime	3
2.1.3 Enterobacteriaceae als gesundheitsschädliche Keime	5
2.2 Vorkommen und Verhalten von Enterobacteriaceae bei der Herstellung pasteurisierter Konsummilch	6
2.2.1 Kontaminanten der Rohmilch	6
2.2.2 Einfluß der Kühlung bei Lagerung und Transport	10
2.2.3 Einfluß der Erhitzungsverfahren	10
2.2.4 Rekontaminanten wärmebehandelter Milch mit Enterobacteriaceae	12
2.2.5 Dynamik der Enterobacteriaceae im Verlauf der Lagerung pasteurisierter Konsummilch	14
2.2.6 Coliformen-Zahlen in pasteurisierter Konsummilch	15
2.3 Verhalten und Vorkommen von Enterobacteriaceae bei Herstellung und Reifung von Weichkäse	18
2.3.1 Definitionen und Herstellung von Weichkäse	18
2.3.2 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Herstellung von Weichkäse	20
2.3.3 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Reifung und Lagerung von Weichkäse	23

	Seite
2.3.4 Vorkommen von Enterobacteriaceae	27
2.4 Verhalten und Vorkommen von Enterobacteriaceae bei der Herstellung und Reifung von Schnittkäse und von halbfestem Schnittkäse	30
2.4.1 Definitionen und Herstellung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse	30
2.4.2 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Herstellung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse	33
2.4.3 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Reifung und Lagerung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse	34
2.4.4 Vorkommen von Enterobacteriaceae in Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse	38
2.5 Verhalten und Vorkommen von Enterobacteriaceae bei der Herstellung und Lagerung von Trockenmilchprodukten	42
2.5.1 Definitionen und Herstellung von Trockenmilchprodukten	42
2.5.2 Verhalten von Coliformen während der Trocknung	45
2.5.3 Verhalten von Coliformen während der Lagerung	46
2.5.4 Vorkommen von Enterobacteriaceae in Trocken-	
3. Eigene Untersuchungen	50
3.1 Material	50
3.2 Methodik	51
3.2.1 Vorbereitung der Proben	51

	Seite
3.2.2 Nachweis von Coliformen	52
3.2.3 Nachweis von "Fäkalcoliformen"	54
3.2.4 Nachweis von Enterobacteriaceae	56
3.2.5 Herkunft der für den Nachweis von Coliformen, "Fäkalcoliformen" und Enterobacteriaceae ver- wendeten Nährböden und Reagenzien	56
3.3 Ergebnisse	57
3.3.1 Pasteurisierte Konsummilch	58
3.3.2 Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Trocken- milchbasis	62
3.3.3 Schnittkäse	68
3.3.4 Weichkäse	72
3.3.5 Bayerischer Cagliata	77
4. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion	80
4.1 Vorkommen von Enterobacteriaceae	81
4.2 Vorkommen von Coliformen	88
4.3 Vorkommen von "Fäkalcoliformen"	95
4.4 Vergleich der Ergebnisse des Enterobacteriaceae- und Coliformen-Nachweises	98
4.5 Einfluß einer Wiederbelebung auf Enterobacteria- ceae-, Coliformen- und "Fäkalcoliformen"-Gehalte von Säuglings- und Kleinkindernahrung	103
5. Zusammenfassung/Summary	106
6. Literaturverzeichnis	110

1. Einleitung

Enterobacteriaceae, Coliforme und "Fäkalcoliforme" spielen hauptsächlich als Rekontaminanten in pasteurisierter Konsummilch und Milchprodukten eine Rolle, daneben aber auch als Vertreter der Rohmilchflora in Käse aus nichterhitztem Ausgangsmaterial. Ihr möglicher Einfluß in technologischer Hinsicht, der sich z.B. in Geschmacks- oder Texturfehlern bzw. Frühblähung von Käse zeigt, ist nicht zu unterschätzen. Diese Keime können auch die Haltbarkeit von pasteurisierter Trinkmilch auf Grund ihrer enzymatischen Aktivität im rohen Ausgangsmaterial nachteilig beeinflussen. Des weiteren muß bei Anwesenheit pathogener Spezies oder Varietäten mit einem gewissen gesundheitlichen Risiko beim Verzehr von Milchprodukten gerechnet werden. Schließlich sind Enterobacteriaceae, Coliforme bzw. "Fäkalcoliforme" wichtige Markerkeime (MOSSEL, 1981), die entweder Aufschluß über die Produktionshygiene oder über die mögliche Anwesenheit pathogener Spezies geben.

Ziel dieser Arbeit war eine Erhebung über das Vorkommen von Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in pasteurisierter Konsummilch, Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Trockenmilchbasis sowie Schnitt- und Weichkäse des Handels. Es sollte weiterhin an Hand der festgestellten wahrscheinlichsten Keimzahlen (MPN) geprüft werden, welche Unterschiede zwischen den Ergebnissen des Enterobacteriaceae- und Coliformen-Nachweises bestehen und ob gegebenenfalls den Enterobacteriaceae gegenüber den Coliformen der Vorzug als Markerkeime gegeben werden sollte. Weiterhin sollte im Rahmen der Untersuchung von Säuglings- und Kleinkindernahrung ermittelt werden, welchen Einfluß eine Wiederbelebungsphase (MOSSEL und RATTO, 1970) auf die Nachweise von Enterobacteriaceae, Coliformen bzw. "Fäkalcoliformen" hat.

2. Schrifttum

2.1 Bedeutung von Enterobacteriaceae in Milch und Milchprodukten

Die meisten der zur Familie der Enterobacteriaceae gehörenden Arten sind für die Lebensmittelhygiene, speziell die von Milch und Milchprodukten, unter mehreren Gesichtspunkten von Bedeutung: Minderung von Qualität und Haltbarkeit, Enterobacteriaceae als Markerkeime und Enterobacteriaceae als gesundheitsschädliche Keime.

2.1.1 Minderung von Qualität und Haltbarkeit

Seit dem intensiven Einsatz der Milchkühlung haben sich die psychrotrophen Bakterien zu einem der mikrobiologischen Hauptprobleme in der Milchwirtschaft entwickelt (RICHTER, 1981). Unter psychrotrophen Bakterien (EDDY, 1960; MOSSEL und ZWART, 1960) versteht man solche, die auch bei Kühlungstemperaturen noch zu wachsen vermögen und, falls sie nicht selbst die Erhitzung überleben, durch thermoresistente Enzyme (KISHONTI und SJÖSTRÖM, 1970; ADAMS et al., 1975; DOWNEY, 1980; MOTTAR, 1984) oder infolge einer Rekontamination zu sensorisch wahrnehmbaren Veränderungen der pasteurisierten Milch führen können, vor allem dann, wenn eine längere Haltbarkeitsdauer vorgesehen ist (RICHTER 1981). Schon seit langem ist bekannt (DAHLBERG, 1964), daß neben den Pseudomonaden die Laktose-positiven Enterobacteriaceae-Spezies einen gewissen Anteil der Psychrotrophen ausmachen (eine Literaturzusammenstellung hierzu findet sich bei COUSIN, 1982). Über die Höhe dieses Anteils gehen die Meinungen allerdings auseinander (SOBECK-SKAL und BINDER, 1962; BUSSE, 1966). Nach Untersuchungen von THOMAS (1974) liegt er zwischen 5 und 33 %. Coliforme sollen neben ihren enzymatischen Aktivitäten einen synergistischen Einfluß auf die anderen gramnegativen Psychrotrophen ausüben (PANES und THOMAS, 1968).

Neben diesen sich mehr auf die sensorischen Eigenschaften eines Produkts auswirkenden Veränderungen können in der Käserei durch

Enterobacteriaceae unerwünschte Gasbildung und Texturfehler im Käse hervorgerufen werden. Da die Störung zu einem frühen Zeitpunkt der Fabrikation auftritt (meist bereits auf der Presse oder im Salzbad), wird sie auch als "Frühblähung" bezeichnet (KÄSTLI, 1963).

Auf weitere die Qualität und Haltbarkeit von Milch und Milchprodukten negativ beeinflussende Eigenschaften von Psychrotrophen einschließlich der entsprechenden Enterobacteriaceae-Gattungen soll hier nicht weiter eingegangen werden. Nähere Angaben sind z.B. den Arbeiten von SUHREN et al. (1976), KIELWEIN et al. (1978) und vor allem der Übersichtsarbeit von COUSIN (1982) zu entnehmen.

2.1.2 Enterobacteriaceae als Marker-Keime

Bereits seit Ende des letzten Jahrhunderts wurde versucht, den damals nur bedingt durchführbaren Nachweis des Typhuserregers im Trinkwasser durch den des "Bacterium coli commune" zu ersetzen (MACÉ, 1888; SCHARDINGER, 1892). Die Anwesenheit des regelmäßig im menschlichen Darm vorkommenden Bacterium coli commune sollte eine Verunreinigung mit Fäzes und somit die mögliche Anwesenheit von Salmonella typhi anzeigen. Dieses Indikatorkeim-Konzept wurde später auch auf den Lebensmittelsektor übertragen und, allerdings mit einigen wesentlichen Modifikationen, bis heute bei der Untersuchung von Trinkwasser und Lebensmitteln verwendet. Zu diesen Modifikationen gehörte die Ausdehnung der Untersuchung auf die gesamte Gruppe der Coliformen (MOSSEL, 1967). Während aber E. coli Biotyp I (IMVEC-Muster: ++-+-) relativ eng an das Darmmilieu gekoppelt zu sein scheint, finden sich die übrigen Coliformen hauptsächlich außerhalb des Verdauungstraktes (SELENKA, 1967). Durch Bebrütung bei erhöhten Temperaturen und vollständigen oder teilweisen Einschluß des IMViC-Testes versuchte man die "fäkalen" von den "nicht-fäkalen" Coliformen zu trennen (MOSSEL, 1967). Diese temperaturbedingte Wachstumshemmung gelingt allerdings nicht immer (FISHBEIN, 1976; AUSTIN et al., 1981; GARBOW et al., 1981.)

Im Gegensatz zur Trinkwasseruntersuchung erfolgte der Nachweis von Coliformen in behandelter Milch bzw. Milchprodukten nicht unter dem Aspekt der möglichen fäkalen Verunreinigung, "sondern zur Überprüfung der Effektivität von Maßnahmen, die durchgeführt wurden, um eine bakterielle Kontamination des Produkts auf ein Mindestmaß zu beschränken" (APHA, 1972). Diese beiden unterschiedlichen Intentionen - auf der einen Seite Abschätzung eines möglichen Gesundheitsrisikos, auf der anderen Kontrolle produktionshygienischer Maßnahmen - wurden erstmals 1977 von INGRAM formuliert und in seinem Konzept der Index- und Indikator-Mikroorganismen zusammengefaßt. Nach MOSSEL et al. (1978), der die Anregung von INGRAM aufgriff, weist die Anwesenheit von Indikator-Mikroorganismen in Lebensmitteln, die im Hinblick auf Haltbarkeit oder Sicherheit erhitzt oder sonstwie dekontaminiert worden sind in Mengen, die vorgeschriebene Grenzen an koloniebildenden Einheiten pro Gramm überschreiten, nur auf eine unzureichende Behandlung (zu niedrige Letalität bzw. Rekontamination) hin. Die Anwesenheit oder Abwesenheit von pathogenen Keimen ist in diesem Zusammenhang irrelevant. Im Gegensatz dazu verfolgt die Prüfung von Lebensmitteln oder Wasser auf das Vorhandensein von Index-Mikroorganismen die Feststellung der Möglichkeit, daß diese Materialien mit pathogenen Mikroorganismen kontaminiert sein können. Beide Begriffe, Index- und Indikator-Mikroorganismen, wurden später von MOSSEL (1981) unter dem Oberbegriff Marker-Keime subsumiert. Obwohl theoretisch zahlreiche Keime und Keimgruppen als Marker-Keime im Frage kämen (MOSSEL, 1967; MOSSEL, 1978; STADHOUDERS et al., 1982), sind die Gesamtheit der Enterobacteriaceae als Index für das Vorkommen von Salmonellen (DRION und MOSSEL, 1972; DRION und MOSSEL, 1977) und Enterobacteriaceae oder Coliforme als Hygieneindikatoren heute am besten untersucht bzw. wurden in größerem Maßstab bei der Prüfung von Lebensmitteln eingesetzt.

Während bei der Untersuchung vieler Produkte eine Erfassung aller Enterobacteriaceae sinnvoll erscheint (ein auf SEELIGER (1952) zurückgehendes und vor allem von MOSSEL (1982) ausgearbeitetes und empfohlenes Konzept), glaubt man sich zumindest im Fall von

Milch trotz der Einwände oben genannter Autoren auf den Nachweis der Coliformen als Hygieneindikatoren beschränken zu können. Als Hauptargument wird hierbei vorgebracht, daß Coliforme den dominierenden Anteil der Enterobacteriaceae-Flora darstellen (BUSSE, 1967; BUSSE, 1968; WEBER und HAMANN, 1978) und eine Untersuchung auf die gesamte Familie in Relation zum höheren Arbeits- und Materialaufwand keine wesentlich aussagekräftigen Ergebnisse bringt.

Zu dem im Zusammenhang mit Lebensmitteln, speziell Milch und Milchprodukten, relevanten Laktose-positiven Genera der Enterobacteriaceae werden gewöhnlich *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* und *Citrobacter* gezählt. Es hat sich allerdings gezeigt, daß auch andere Milchzucker abbauende Gattungen dieser Familie wie *Kluyvera* (KLEEBERGER et al., 1980) oder normalerweise als Laktose-negativ geltende Vertreter wie *Hafnia* (nach KLEEBERGER et al., 1980 sind 84 % der geprüften Stämme Laktose-positiv) und *Serratia liquefaciens* (nach GRIEM, 1982 sind 54,2 % der aus Kesselmilch, 53,3 % der aus Camembert und 9,5 % der aus Weinkäse isolierten Stämme Laktose-positiv) Anteil an der Coliformen-Flora haben können.

2.1.3 Enterobacteriaceae als gesundheitsschädliche Keime

Zu den Enterobacteriaceae gehören wichtige pathogene Gattungen und Spezies, von denen hinsichtlich der Entstehung einer "Lebensmittelvergiftung" vor allem Salmonellen, enteroinvasive und enterotoxinogene *E. coli* und einige Serovaren von *Yersinia enterocolitica* zu nennen sind. Über Erkrankungen, die auf mit Shigellen kontaminierte Lebensmittel, darunter auch Milch und Milchprodukte, zurückzuführen waren, liegen zwar vereinzelte Berichte vor (OLSON und MOCQUOT, 1980), trotzdem gilt dieser sehr eng mit dem menschlichen Darm assoziierte und hauptsächlich durch direkten oder indirekten Kontakt übertragene Erreger nicht als typischer "Lebensmittelvergifter" (ICMSF, 1978). Andere in Nahrungsmitteln häufige Enterobacteriaceae wie *Klebsiella*, *Proteus* und *Enterobacter* sind nach dem heutigen Wissensstand keine obligaten Krankheitserreger,

wenn sie auch hin und wieder mit Darmerkrankungen in Verbindung gebracht werden (HORVATH et al., 1964; ORMAY und NOVOTNY, 1970; KLIPSTEIN et al., 1977).

Auf die in der Literatur beschriebenen Ausbrüche, die durch Salmonellen und *Y. enterocolitica* in Milch und Milchprodukten hervorgerufen wurden, soll an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden. Detaillierte Übersichten hierzu finden sich für Salmonellen bei MARTH (1969) und BRYAN (1983) sowie für *Y. enterocolitica* bei SWAMINATHAN et al. (1982) und TACKET et al. (1984).

Zwei Fälle von "Lebensmittelvergiftungen", die auf enteropathogene *E. coli* in Weichkäse zurückgeführt werden konnten, sind bisher bekannt geworden. Der erste ereignete sich im Jahre 1971 in den USA und betraf 387 Personen, die nach dem Genuß von aus Frankreich importierten Käse erkrankten. Sowohl aus dem Lebensmittel selbst als auch aus dem Stuhl der Betroffenen wurde *E. coli* O 127: B 17, ein enteroinvasiver Stamm, isoliert (MARIER et al., 1973). Beim zweiten Fall handelt es sich um Ausbrüche in verschiedenen europäischen Ländern im Jahre 1983, die ebenfalls auf importierten französischen Weichkäse zurückgeführt wurden. Der hier involvierte Stamm war ein Enterotoxinbildner. Für diese Erkrankungsserien soll, ebenso wie bei denen in den USA, die Belastung der Käse mit dem Erreger letztlich auf kontaminiertes Brauchwasser zurückgehen.

2.2 Vorkommen und Verhalten von Enterobacteriaceae bei der Herstellung pasteurisierter Konsummilch

2.2.1 Kontamination der Rohmilch

Eine Belastung der Rohmilch mit Bakterien kann bereits im Euter während der Milchbildung (sekretorische Kontamination) oder bei bzw. nach dem Milchentzug außerhalb des Euters (postsekretorische Kontamination) erfolgen.

Bei eutergesunden Tieren ist normalerweise die Milch im oberen Teil der Milchdrüse steril (HEIDRICH et al., 1964 a und b). Je-

doch sollen bei Erkrankungen anderer Organe Keime über die Blutbahn ins Euter und damit in die Milch gelangen können. So wird z.B. die Möglichkeit diskutiert, daß im akuten Stadium einer Salmonellose auch Salmonellen über die Milchdrüse ausgeschieden werden (STREICHAN, 1980). Bei bakteriell bedingten Entzündungen des Euters selbst ist in der Regel mit einer Belastung des Sekrets durch den Erreger zu rechnen. Zwar laufen Eutererkrankungen, die durch Enterobacteriaceae hervorgerufen werden, bei stark verändertem Sekret meist unter erheblichen Störungen des Allgemeinbefindens des Tieres ab, doch sollen gelegentlich katarrhale Mastitiden auftreten (HEIDRICH und RENK, 1963), die bei sinnfällig nicht veränderter Milch evtl. eine unbemerkte Belastung der Rohmilch mit Enterobacteriaceae zur Folge haben können. Die Passage des Strichkanals während des Melkens stellt bei gesundem Euter durch die dort befindliche Keimflora normalerweise die erste Kontaminationsquelle der Milch dar. Die mikrobielle Belastung durch den Strichkanal wird mit 10^2 - 10^3 Keimen/ml (HEESCHEN et al., 1981; WINTERER, 1982) ebenso wie durch die beim maschinellen Milchentzug angesaugte Luft (nach WINTERER, 1982 a 10^2 - $1,5 \times 10^3$ Keime/ml, nach KURZWEIL und BUSSE, 1973 noch weniger) nicht besonders hoch veranschlagt. Außerdem sollten bei sachgerechtem Melken, wie in § 17 der 1. Ausführungsverordnung zum Milchgesetz vorgeschrieben, die ersten Striche aus jeder Zitze verworfen werden.

Für die postsekretorische Kontamination spielt der Tierkörper als Kontaminationsquelle sowohl beim maschinellen als auch beim manuellen Milchentzug eine gewisse Rolle. Bei der konventionellen Zweiraumbechermaschine umspült die Milch regelmäßig den unteren Zitzenbereich, so daß die Hautflora dieser Region die Milch verunreinigen kann (TOLLE und WHITTLESTONE, 1976). Diese Flora, zu der nach WINTERER (1982) neben verschiedenen Kokken, Mikrobakterien und Sporenbildnern auch Enterobacteriaceae gehören, entstammt der Umwelt (Futter, Einstreu, Luft, Wasser) bzw. dem Kot der Tiere (TOLLE und WHITTLESTONE, 1976).

Die bisher genannten Faktoren, zu denen noch der Einfluß der Hygi-

ene des Melkpersonals kommt (PALMER, 1981), tragen nur relativ wenig zur bakteriologischen Beschaffenheit der Milch bei. Die Hauptkontamination maschinenermolkener Milch findet in den Melkgerätschaften statt (KURZWEIL und BUSSE, 1973). Vor allem Milchreste (Protein-, Fett- und Mineralstoffablagerungen), die durch unzureichende Reinigung und Desinfektion nicht entfernt wurden (KURZWEIL und BUSSE, 1973) und sich, begünstigt durch die Oberflächenstruktur der Melkeinrichtung (HEESCHEN et al., 1981; PALMER, 1981), in den Gerätschaften halten, bilden einen idealen Nährboden. Mit steigenden Gesamtkeimzahlen nimmt vor allem der Anteil gramnegativer Bakterien zu (DRUCE und THOMAS, 1972). Eine Floraanalyse von Melkzeugen ergab auf den mit Milch in Berührung kommenden Oberflächen (WINTERER, 1982 a) über 70 % gramnegative Mikroorganismen. Einige Untersuchungen beschäftigen sich mit dem Anteil der Enterobacteriaceae bzw. Coliformen an der Gesamtheit dieser gramnegativen Flora. Hierbei fanden sich starke Variationen in der Zusammensetzung der Flora in den einzelnen Betrieben. So fanden ABO-ELNAGA und KANDLER (1965) einen maximalen Anteil der Coliformen an der Gesamtkeimzahl von 98 %, während in einzelnen Melkmaschinen ihr Anteil unter 0,01 % lag. Von mehreren tausend aus frisch ermolkener Milch isolierten Reinkulturen waren nach KURZWEIL und BUSSE (1973) ca. 21 % gramnegative Stäbchen und hiervon 4 % Enterobacteriaceae. Bei keimarm ermolkener Milch (46 Proben) belief sich der Gehalt an gramnegativen Stäbchen auf 3,5 % (0,1 % Enterobacteriaceae). KIELWEIN (1977) untersuchte 101 für die BRD repräsentative Proben von Anlieferungsmilchen und differenzierte 758 dabei gefundene Enterobacteriaceae-Kulturen (Tab. 1). Im Sommer ergab sich ein Gehalt an gramnegativen Bakterien von 57,4 % an der Gesamtkeimzahl mit einem Enterobacteriaceae-Anteil von 51,5 %. Während im Winter 40,3 % gramnegative Bakterien mit 21,1 % Enterobacteriaceae nachweisbar waren. Bei den Enterobacteriaceae standen hierbei im Sommer Enterobacter liquefaciens und Klebsiella an erster Stelle, während im Winter E. liquefaciens überwog.

Tabelle 1: Differenzierung von 758 Kulturen von
Enterobacteriaceae in Anlieferungsmilch
(KIELWEIN, 1977)

Enterobacteriaceae n = 758	
Gattungen/Spezies	Zahl der Isolate
Escherichia coli	16 = 2,1 %
Citrobacter	62 = 8,1 %
Klebsiella	167 = 22,1 %
Enterobacter (E.) cloacae	148 = 19,5 %
E. aerogenes	142 = 14,7 %
E. liquefaciens	182 = 24,1 %
Hafnia	7 = 0,9 %
Serratia	34 = 4,5 %
Proteus	2 = 0,3 %
Erwinia	25 = 3,3 %
nicht eingeordnet	3 = 0,4 %

2.2.2 Einfluß der Kühlung bei Lagerung und Transport

Gemäß der 1. Ausführungsverordnung zum Milchgesetz (§ 17, Nr. 6) ist die Milch unmittelbar nach dem Abmelken u.a. zu kühlen. Auch wenn die zumindest für die Erzeugung von Trinkmilch angestrebte Kühlungstemperatur der Rohmilch von 4 °C innerhalb der vorgesehenen Zeit von 2 - 3 Stunden (TOLLE, 1983) erreicht wird, kommt es trotzdem zu einer Vermehrung der psychrotrophen Flora. Die Intensität ihres Wachstums ist dabei von der Höhe der Ausgangsbelastung (BUSSE, 1965) und der Florazusammensetzung abhängig. Aus einer Literaturstudie von PANES und THOMAS (1968) geht hervor, daß Coliforme in Milch, unter denen Enterobacter die wesentlichste Rolle spielt, sich bei Kühltemperaturen von 3 - 5 °C nur langsam vermehren (in drei Tagen um den Faktor $10^2 - 10^3$). Bei Temperaturen unter 8 - 10 °C ist nicht damit zu rechnen, daß sie sich zur dominierenden Flora entwickeln. Ihr Wachstum scheint dabei in gekühlter pasteurisierter Milch rascher zu erfolgen als in gekühlter Rohmilch, was evtl. auf die Ausschaltung der Begleitflora zurückzuführen ist.

2.2.3 Einfluß der Erhitzungsverfahren

In der Bundesrepublik Deutschland wird jährlich nur ca. 1 % der Konsummilch als Rohmilch (Vorzugs- bzw. Ab-Hof-Milch) in Verkehr gebracht (SCHEBLER, 1985). Der weitaus größere Teil wird einer Wärmebehandlung entsprechend § 1 der Ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes unterzogen. Etwa die Hälfte der anfallenden Milchmenge wird dabei pasteurisiert, die andere Hälfte ultrahocherhitzt. Bakterien, die Erhitzungsverfahren im Sinne des § 1 der Ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes überleben können, werden als thermoresistent oder thermodur bezeichnet. Eine Auflistung dieser Keime findet sich in Tab. 2. Wie daraus hervorgeht, ist unter den gramnegativen Bakterien nur "Alcaligenes tolerans" (siehe Anmerkung zu Tab. 2) thermoresistent (ABD-EL-MALEK und GIBSON, 1952). Untersuchungen zu der Frage, ob Coliforme die Hitzeeinwirkung überstehen können, wurden bereits zu Beginn dieses Jahrhunderts durchgeführt. Wenn auch einige Autoren zu dem Schluß kamen, daß solche sogenannten hitzeresistenten Coliformen existieren (neuere Untersuchungsergebnisse hier-

Tabelle 2: Thermoresistente Bakterien in Milch
(nach STADHOUDERS et al., 1982)

Genus	Spezies
1. Alcaligenes	A. tolerans +)
2. Streptococcus	S. faecalis, S. faecium, S. bovis S. thermophilus
3. Micrococcus	M. luteus, M. varians
4. Microbacterium	M. lacticum
5. aerobe und anaerobe Sporenbildner (Bacillus, Clostridium)	B. cereus; B. circulans, B. licheniformis, B. pumilus, B. megaterium, B. subtilis C. tyrobutyricum, C. perfringens, C. pseudotetanicum, C. sporogenes

+) A. tolerans wird in der 9. Aufl. von Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984) nicht aufgeführt. Der Katalog der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen, 3. Aufl. (1983) weist ihn als Acinetobacter calcoaceticus DSM 30036 aus.

zu finden sich z.B. bei SINGH und RANGANATHAN, 1980), sprechen die Literatur- und experimentellen Studien von BUCHBINDER und ALFF (1947), VON GAVEL (1960) und ABO-ELNAGA (1966) gegen diese Möglichkeit. Das Vorkommen von Coliformen in ordnungsgemäß erhitzter Milch wird demnach stets auf eine Rekontamination zurückzuführen sein.

Anders als die Keime selbst können Enzyme psychrotropher Bakterien die Erhitzungsverfahren überstehen, worauf schon unter 2.1.1 hingewiesen wurde. So fanden LAW et al. (1975) nach der Pasteurisierung von Rohmilch noch 75 % der ursprünglichen Lipaseaktivität erhalten. Eine vollständige Enzymaktivierung trat erst nach dem Autoklavieren bei 121 °C für 15 min ein. Ähnlich hohe Hitzeresistenzen beobachteten ADAMS et al. (1975) bei Proteasen verschiedener gramnegativer Psychrotropher. Eine Inaktivierung der Enzyme war durch Ultrahocherhitzungsverfahren z.B. nicht zu erreichen.

2.2.4 Rekontamination wärmebehandelter Milch mit Enterobacteriaceae

Eine Rekontamination der Milch nach der Wärmebehandlung kann vielfältige Gründe haben. LIMMER (1979 b) fand bei seinen Untersuchungen im Rahmen von Beratung und Stufenkontrollen die folgenden in Tab. 3 zusammengestellten Rekontaminationsursachen.

Tabelle 3: Ursachen für die Rekontamination pasteurisierter Milch (nach LIMMER, 1979 b)

- I. Ungenügende "saure Reinigung"
- II. Unsachgemäße Desinfektion
 - 1. zu geringe Desinfektionsmittelkonzentration
 - 2. stark mit Pseudomonaden infiziertes Nachspülwasser
 - 3. zu geringe Druckverhältnisse im System und damit mangelhafte Reinigung
- III. Lagertanks
 - 1. beschädigte Innenoberflächen, Korrosionen, Beulen, zu geringer Neigungswinkel - Spülwasserreste
 - 2. unsachgemäß eingebaute Meß- und Steuervorrichtung
 - 3. Dichtungen
 - 4. tote Winkel an Zu- und Ableitungen
- IV. Rohrverschraubungen
 - 1. Rohrverbindungen mit Überwurfmutter
 - 2. Gummidichtung
 - 3. nicht einwandfrei ausgeführte Rohrverschweißungen
 - 4. Rohrverzweigungen - Dreiwegehähne
 - 5. automatische Membranventile
- V. Milchfüllanlagen
 - 1. Ventile
 - 2. Gummidichtungen
 - 3. Meßeinrichtung
- VI. Mangelhafter Reinigungskreislauf
(niedriger Druck u.s.w.)

An den in der Tab. 3 unter den Punkten III. bis V. benannten Stellen können, insbesondere in Kombination mit unzureichenden Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen (Punkte I., II. und VI) Milchreste zurückbleiben, in denen sich Rekontaminationskeime ansiedeln und, wenn sie sehr wenig Ansprüche an das Nährmedium stellen, wie dies bei Coliformen der Fall ist, auch wachsen (WEISS und BUSSE, 1968). Aus derartigen Nischen erfolgt eine ständige Belastung des erhitzten Materials. Ebenso wie SCHRÖDER et al. (1982) sieht LIMMER (1979 b) in den Milchabfüllanlagen die Hauptrekontaminationsquellen. Dies wird sowohl auf die relativ komplizierte Bauart der Gerätschaften, bedingt durch beweglichere Meßvorrichtungen, als auch die Möglichkeit eines Kontaktes mit der Luft bzw. mit dem Verpackungsmaterial zurückgeführt. Für eine Rekontamination speziell mit Coliformen scheinen allerdings die beiden letztgenannten Faktoren nur von untergeordneter Bedeutung zu sein (SULLIVAN, 1979; GRASSHOFF, 1982). Das in den Molkereien verwendete Brauchwasser stellt für die primäre Belastung der Molkereigerätschaften mit gramnegativen Psychrotrophen eine häufige Quelle dar (TERPLAN, 1980). Allerdings gehören Coliforme nicht zu den typischen Wasserkeimen, was unter anderem aus den bei THOMAS (1958) referierten Untersuchungsergebnissen an Brauchwasser von Milch erzeugenden bzw. be- und verarbeitenden Betrieben hervorgeht.

2.2.5 Dynamik der Enterobacteriaceae im Verlauf der Lagerung pasteurisierter Konsummilch

Die Entwicklung der Rekontaminationsflora hängt vor allem von Temperatur und Dauer der Lagerung ab. So fand LIMMER (1979 a) bei Untersuchungen von pasteurisierter Konsummilch am ersten Tag nach der Abfüllung bei 19,3 % von 684 Proben in 1 ml Coliforme. Nach einer Lagerung bei 10 - 12 °C stieg am vierten Tag der Anteil der positiven Proben auf 63 % an. Nach Angaben von FONDEN (1971) erhöhte sich zwischen dem ersten und neunten Tag der Lagerung bei 7 °C die Zahl der Proben mit mehr als 100 Coliformen von 0,6 % auf 44 %.

Lagerungstemperatur und -dauer sind auch für die qualitative Zu-

sammensetzung der Enterobacteriaceae-Flora von Bedeutung. So dominierten bei 7 °C nach sieben Tagen "*Enterobacter hafniae*" (*Hafnia alvei*) gefolgt von *Kluyvera* und *Serratia liquefaciens*, bei 15 °C nach 3 Tagen ging der prozentuelle Anteil der beiden letztgenannten auf Kosten von *Citrobacter freundii* und *Enterobacter cloacae* deutlich zurück (KLEEGER et al., 1980). TOLLE et al. (1979) fanden dagegen nach einer Lagerung von 72 Stunden bei 10 - 12 °C überwiegend *Serratia liquefaciens* und *E. coli*, gefolgt von *Citrobacter freundii* und *Enterobacter cloacae*.

Interessant erscheint in diesem Zusammenhang die Feststellung von ASPERGER und BRANDL (1978), derzufolge sich *E. coli* Biotyp I, der nach Angaben von SELENKA (1967) als typischer Darmbewohner gilt, langsamer bei 9 °C in steriler Magermilch vermehrte als die nicht regelmäßig dem Darm zuzuordnenden *E. coli* Biotyp II, *C. freundii* und *E. aerogenes*.

2.2.6 Coliformen-Zahlen in pasteurisierter Konsummilch

Wie bereits unter 2.1.2 erwähnt, erbringt der Enterobacteriaceae-Nachweis in pasteurisierter Milch, ähnlich wie auch in Rohmilch, keine wesentlichen Vorteile gegenüber der konventionellen Untersuchung auf Coliforme. So soll in Rohmilch nach PANES und THOMAS (1959) der Anteil der Coliformen an den Enterobacteriaceae bei 98 % liegen. Für pasteurisierte Milch fand BUSSE (1967) mit 45 % bzw. 30 % (1968) zwar einen niedrigeren Wert, betont aber, daß die schärfere Anzeige des Enterobacteriaceae-Titers nicht als Ausgleich für die umständlichere und aufwendigere Nachweistechnik betrachtet werden kann, da sich diese Verbesserung ebensogut durch eine Verschärfung der Anforderungen an den Colititer erreichen ließe. Dementsprechend konnten im Schrifttum auch keine verwertbaren Angaben zum Vorkommen der Gesamtheit der Familie der Enterobacteriaceae in pasteurisierter Milch gefunden werden.

Über die zu erwartenden Gehalte an Coliformen liegen dagegen Arbeiten vor, von denen einige exemplarisch referiert werden sollen. ARCHAMBAULT (1954) untersuchte in Kanada während der Sommermonate 972 Proben pasteurisierter Milch und fand in 73,1 %

Coliformengehalte von weniger als 10/100 ml, in 87,4 % solche von $<50/100$ ml und in 89,3 % solche von $<100/100$ ml. In Großbritannien fand PAPA VASSILIOU (1957) in 101 von 375 Proben des Einzelhandels (Januar bis August) Coliforme, macht aber keine Angaben zur Höhe der Belastung. MURRAY (1960) untersuchte in Irland 7432 Proben pasteurisierter Milch (April bis Dezember) und gibt die Zahl der positiven Ergebnisse mit 18,7 % an, ebenfalls ohne Quantifizierung der Befunde. BUSSE (1968) stellte in der Bundesrepublik bei 91 untersuchten Proben einen mittleren Coliformen-Gehalt von 0,64/ml fest. Untersuchungen von KLIMA (1973) an Trinkmilch aus Südhessen ergaben in acht von 100 Proben mehr als 30 Coliforme/ml, während in den restlichen 92 Proben die Untersuchung negativ verlief. Nach WINTERER (1982 b) lag die Zahl an Coliformen bei zwei verschiedenen Molkereibetrieben zu Beginn und zu Ende der Abfüllung zwischen 0 und 9,5 Keimen/100 ml. Weitere Angaben zum Coliformen-Gehalt pasteurisierter Milch in der Bundesrepublik sind Tab. 5 zu entnehmen.

Tabelle 5: Coliformen-Titer in pasteurisierter Milch (nach Literaturangaben)

Probenahme	Anzahl der Proben	1 ml neg.	1 ml pos.	10 ⁻¹ ml pos.	10 ⁻² ml pos.	10 ⁻³ ml pos.	10 ⁻⁴ ml pos.	10 ⁻⁵ ml pos.	Autor(en)
Winter	1081	52,08	12,95	34,97					TOLLE et al. (1971)
Sommer	840	22,51	12,62	13,57	12,02	15,48	14,40	9,40	OTTE (1976)
	12	66,7	25,0	8,3	0,0	0,0	./.	./.	
unmittelbar nach Pasteurisierung	209	73,7	6,7	10,0	9,6				SUHREN et al. (1980)
Ende deklarierter Haltbarkeit	251	62,9	2,4	5,2	29,5				

2.3 Verhalten und Vorkommen von Enterobacteriaceae bei der Herstellung und Reifung von Weichkäse

Da in der Bundesrepublik Deutschland Weichkäse generell aus pasteurisierter Milch hergestellt wird (SONNENMOSER und KESSLER, 1984), gilt, ähnlich wie bei der pasteurisierten Konsummilch, die Rekontamination als Hauptquelle für eine Belastung des Käses bzw. seiner Vorstufen. Die Rekontaminationsmöglichkeiten sind vielfältig. Die pasteurisierte Milch, die bis zur Verarbeitung in Tanks gestapelt wird, kann dort bereits mit Enterobacteriaceae belastet werden. Auch bei der Zugabe von Rahm bzw. Magermilch zur Einstellung des Fettgehaltes und von Starter- und Schimmelpilzkulturen kann durch nicht sorgfältig ausgeführtes Arbeiten oder eine Eigenbelastung des zugegebenen Materials der Coliformen-Gehalt der Käsereimilch beeinflußt werden (SONNENMOSER und KESSLER, 1984). Die Käsefertiger, Reaktionstanks, Koagulatoren etc. stellen in dieser Produktionsphase ein zusätzliches Risiko dar, das auf mangelhafte Reinigung und Desinfektion der Behälter, aber auch auf die Tankbelüftung zurückgeführt werden kann (TEIPEN, 1982). Weitere Rekontaminationsquellen nach Labzugabe und Gerinnung sind die für die Bruchbereitung und -bearbeitung benützten Gerätschaften (SONNENMOSER und KESSLER, 1984), Entmolkungseinrichtungen (BUSSE, 1983; SONNENMOSER und KESSLER, 1984) und Wannen, denen BUSSE (1983) eine besonders große Bedeutung für den Anstieg der Coliformen-Zahl beimißt. Beim größtenteils manuell durchgeführten Wenden und Abtropfen ist ein Kontakt mit der Hand teilweise unumgänglich, wodurch das Produkt oberflächlich u.a. mit Coliformen und "Fäkalcoliformen" kontaminiert werden kann (SELIGMANN und ROSENBLUTH, 1975; SONNENMOSER und KESSLER, 1984). Das Salzbad trägt nach SONNENMOSER und KESSLER (1984) nur wenig zur Belastung mit coliformen Keimen bei. Wasserrückstände nach Reinigen von Gerätschaften und Behältern, kontaminiertes Wasser, das mit Halbfertigprodukten in Berührung kommen kann (TERPLAN, 1980) und die Luft (SULLIVAN, 1979) werden ebenfalls als Kontaminationsquelle genannt.

2.3.1 Definitionen und Herstellung von Weichkäse

Entsprechend den Vorschriften der Käseverordnung vom 19. Februar 1976 werden der Käsegruppe Weichkäse solche Produkte zugeordnet,

die einen Wassergehalt in der fettfreien Käsemasse von mehr als 67 % bis 73 % (Magerstufe bis Rahmstufe) bzw. 67 % bis 82 % (Doppelrahmstufe) aufweisen. Als Untergruppen (MAIR-WALDBURG, 1974) können Weichkäse mit Schimmel (Standardsorten lt. Anlage 1 der Käse-VO: Camembert und Brie) und Weichkäse mit Schmiere (Standardsorten lt. Anlage 1 der Käse-VO: Romandur, Limburger und Münsterkäse) unterschieden werden.

In den Grundzügen ihrer Herstellung unterscheiden sich die Weichkäse mit Schmiere nicht wesentlich von denen mit Schimmel. Beide Untergruppen werden, wie bereits erwähnt, in der Bundesrepublik aus pasteurisierter Milch produziert. Dies war bisher jedoch gesetzlich nicht vorgeschrieben. Beim Limburger erfolgt vor dem Einlaben bei Temperaturen von 29 - 35 °C ein Zusatz von 0,2 - 0,5 % Säurewecker zur Kesselmilch. Die Dickungszeit dauert 30 - 60 min. Danach wird der mittelgroße Bruch bereitet, was ca. 35 min in Anspruch nimmt. Nach dem Abfüllen erfolgt das Wenden und je nach Herstellungsart das Schneiden. Bei letzterem sollte die abtropfende Molke einen pH-Wert von 5,1 - 5,2 aufweisen. Nach ca. 16 h werden die Laibe für 12 - 24 h bei 16 - 18 °C in ein Salzbad verbracht (16 - 18 % NaCl) und anschließend im Reifungskeller über 3 - 4 Wochen 6 - 8 mal geschmiert. Die Temperatur beträgt hierbei 14 °C, die optimale relative Luftfeuchtigkeit liegt zwischen 90 und 95 %.

Kesselmilch für Camembert erhält meist nach einer Vorreifungsphase einen Säureweckerzusatz von 1 - 2 %. Die Beimpfung mit der Schimmelpilzkultur kann vor, während oder nach dem Einlaben bei 30 - 36 °C erfolgen. Nach einer Gerinnungszeit von 15 - 20 min und dem Ausdicken über 40 - 50 min wird der mittelgroße Bruch bereitet, was ca. 25 min in Anspruch nimmt. Das abgefüllte Material wird gewendet und nach 18 - 20 h bei 20 - 24 °C in das Salzbad verbracht. Der ideale Zeitpunkt hierfür ist erreicht, wenn die abtropfende Molke einen pH-Wert von 4,80 - 4,85 erreicht hat. Im Salzbad (18 - 20 % NaCl, 16 - 20 °C) bleiben die Käse je nach Größe für 40 - 150 min. Nach der Trocknung (ca. 3 Tage, bei 16 - 18 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 8 %) er-

folgt unter täglichem Wenden die Reifung (15 - 16 °C, 90 - 95 % relative Luftfeuchtigkeit) und 8 - 11 Tage später das Verpacken. (Die Angaben wurden dem Handbuch der Lebensmittelchemie (MAIR-WALDBURG, 1968) und dem Handbuch der Käse (MAIR-WALDBURG, 1974) entnommen. In den im folgenden referierten Untersuchungen finden sich zum Teil Abweichungen hinsichtlich der Temperatur Dauer einzelner Produktionsabschnitte.)

2.3.2 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Herstellung von Weichkäse +)

Wie Untersuchungen von GRIEM (1982) in drei verschiedenen Molke-reien zeigen, kann der Gehalt der Kesselmilch an Enterobacteria-ceae beträchtlich schwanken. So lag er in einer Camembert produ-zierenden Molkerei bei 10 Keimen/ml und in den Kesselmilchen zweier Weinkäsehersteller bei 10^3 bzw. 10^5 /ml. Gemessen an der Forderung von BUSSE (1983), wonach die Kesselmilch in 10 ml frei von Coliformen sein muß, um Produkte zu erhalten, die weniger als 10^4 Coliforme/g aufweisen, liegen diese Werte um einiges zu hoch. Nach TEIPEN (1982) soll eine Thermisierung (62 °C, 15 sec) vor der eigentlichen Verarbeitung in Kombination mit täglichen Rei-nigungs- und Desinfektionsmaßnahmen gute Ergebnisse bei der Be-kämpfung derartiger Rekontaminationen erbringen. Leider konnten im Schrifttum keine näheren Angaben hierzu gefunden werden.

Die weitere Entwicklung der Enterobacteriaceae bestimmt wesent-lich die Aktivität des Säureweckers (RUTZINSKI et al., 1979). Zwar werden verschiedenste hemmende Einflüsse der Starterkulturen auf die Keimflora in der Kesselmilch diskutiert, wie die Produk-tion von bakteriellen Antibiotika (z.B. Nisin oder Bacteriocine) und Wasserstoffperoxid, die Konkurrenz um Nährstoffe oder ein von TEUBER (1981) ganz allgemein als "Verdrängungswettbewerb" be-

+) Der besseren Übersichtlichkeit halber wird im folgenden die Produktion in die Abschnitte Herstellung (2.3.2) und Reifung/Lagerung (2.3.3) unterteilt, obwohl beide Phasen ineinander übergehen und nicht streng zu trennen sind.

zeichnetes Prinzip, demzufolge sich in der Regel die Milchsäurebildner gegenüber anderen Keimen durchsetzen (SPECK, 1971; DALY et al., 1972; GILLILAND und SPECK, 1972; TEUBER, 1981), das Hauptaugenmerk ist aber wohl auf die Produktion von organischen Säuren wie z.B. Essigsäure und Ameisensäure, vor allem aber Milchsäure zu legen. Diese Substanzen wirken nicht nur direkt toxisch, sondern über die Absenkung des pH-Wertes auch indirekt auf die Keimflora ein (DALY et al., 1972).

Die Säuerung in Camembert entwickelt sich nach Zusatz der Starterkultur stufenweise. In den ersten fünf bis sechs Stunden erfolgt ein rascher Abfall des pH-Wertes auf ca. 5,3 (RUTZINSKI et al., 1979; GRIEM, 1982), danach sinkt er langsam innerhalb 24 bis 48 Stunden auf Werte von 4,6 - 4,8 (MOURGUES et al., 1977; RUTZINSKI et al., 1979). Neben der in der früheren Phase der Käsefertigung ablaufenden Säuerung ist außerdem der Temperaturfaktor zu berücksichtigen. TEIPEN (1982) geht davon aus, daß über einen Zeitraum von sechs bis acht Stunden die für das Wachstum coliformer Keime günstige Temperatur von ca. 30 °C herrscht. Damit wird der von mehreren Autoren beobachtete maximale Anstieg der Coliformen-Zahlen beim Einlaben sowie auch bei der Bruchbereitung verständlich. In dieser Phase können, wie Untersuchungen von PARK et al. (1973), WINTERER (1976), FRANK et al. (1977), MOURGUES et al. (1977), RUTZINSKI et al. (1979), TOLLE et al. (1981), GRIEM (1982), BUSSE (1983), SCHMIDT-LORENZ et al. (1983), SONNENMOSER und KESSLER (1984) zeigen, Anstiege der Gehalte an verschiedenen Coliformen einschließlich E. coli um bis zu drei Zehnerpotenzen registriert werden. Von wesentlichem Einfluß auf die Höhe dieses Anstiegs ist nach TOLLE et al. (1981) die Ausgangsbelastung der Kesselmilch. Lag z.B. deren Primärkontamination bei 10^4 E. coli/ml, so wurden im Bruch Werte von 10^7 /g erreicht, was auch durch die inhibitorische Aktivität der verwendeten Starterkulturen nicht mehr verhindert werden konnte.

Ähnliche Verhältnisse wie bei Camembert lagen nach GRIEM (1982) auch bei der Produktion von Weichkäse mit Schmierebildung (Weinkäse) vor. So stiegen die Gehalte an Enterobacteriaceae insge-

samt und an *E. coli* um ca. zwei Zehnerpotenzen. Eine besonders starke Vermehrung lag, ähnlich wie bei Camembert, im Bruch vor. Während allerdings bei letzterem die Erhöhung der Keimzahlen in diesem Stadium noch nicht abgeschlossen war, erreichte sie bei dem Weinkäse hier ihr Maximum.

Während der Zeit der Lagerung vor dem Salzbad finden bei Camembert keine oder nur noch geringgradige Anstiege der Coliformengehalte statt (PARK et al., 1973; FRANK et al., 1977; RUTZINSKI et al., 1979; TOLLE et al., 1981; GRIEM, 1982; SCHMIDT-LORENZ et al., 1983), eine Wachstumshemmung, die sich auch während der Behandlung im Salzbad noch fortsetzt (TOLLE et al., 1981; SONNENMOSER und KESSLER, 1984) und nach Angaben von FRANK et al. (1977) bei *E. coli* sogar in einer Reduktion der Keimzahl resultierte.

Die Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora in Weinkäse wich bei den Untersuchungen von GRIEM (1982) von dem für Camembert geschilderten Verhalten nicht wesentlich ab. Nach der starken Vermehrung im Bruch (siehe Seite 21) blieb das Keimzahlniveau weitgehend konstant.

Hinsichtlich der Zusammensetzung der Enterobacteriaceae-Flora treten im Verlauf der Käsefertigung Verschiebungen auf, die nach GRIEM (1982) in einer für jeden Herstellungsabschnitt charakteristischen Flora resultieren. So überwogen in den Untersuchungen der genannten Autorin in Kesselmilch für die Camembertproduktion *Citrobacter freundii* und *Enterobacter agglomerans*, während *Hafnia* und *Enterobacter cloacae* einen geringeren Anteil an den Isolaten ausmachten. Im Bruch trat eine Verschiebung zugunsten von *E. cloacae* auf. Gleichzeitig war, bei starkem Rückgang von *E. agglomerans*, neben den oben genannten Spezies noch *Klebsiella aerogenes* zu einem höheren Prozentsatz nachweisbar. Diese Tendenz setzte sich bis zum Beginn der Reifungsphase fort.

Eine Floraanalyse der Kesselmilch bei der Produktion von Weinkäse erbrachte in einem der untersuchten Betriebe eine Dominanz

von *C. freundii*, *E. cloacae* und *Hafnia*. Im Bruch traten zusätzlich in geringem Umfang auch *Serratia liquefaciens*, *E. coli* und *K. aerogenes* auf. Im zweiten Betrieb fehlte dagegen *Hafnia* ganz, so daß sich relativ starke molkereichspezifische Einflüsse auf die Florazusammensetzung vermuten lassen.

Die Entwicklung von *E. coli* läuft den Angaben von FRANK et al. (1977), GRIEM (1982) und SONNENMOSE und KESSLER (1984) zwar in etwa parallel zum Coliformen-Gehalt, liegt aber auf einem niedrigeren Keimzahlniveau, so z.B. in Untersuchungen von SONNENMOSE und KESSLER (1984) um ca. 2 - 3 Zehnerpotenzen unter der Zahl an Coliformen. SCHMIDT-LORENZ et al. (1983) verfolgten die Dynamik der "Fäkalcoliformen" in Weichkäse, worunter sie solche Bakterien verstanden, die auf Kristallviolett-Galle-Neutralrot bei 44 °C innerhalb von 24 h typische Kolonien bildeten. In der Kesselmilch und im Bruch/Molke-Gemisch waren die Befunde negativ, im "frischen Käse" und unmittelbar vor dem Salzbad traten "Fäkalcoliformen"-Zahlen in der Größenordnung von 10^2 - 10^3 auf. In einer Floraanalyse erwiesen sich 12 % ("Käse frisch") bzw. 52 % ("vor dem Salzbad") als der Spezies *E. coli* zugehörig, 54 bzw. 32 % waren Enterobacter-, 26 bzw. 8 % Klebsiella- und 8 % Citrobacter-Arten. Außerdem traten im "frischen Käse" *Serratia* (6 %) und *Providencia* (2 %) auf.

2.3.3 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Reifung und Lagerung von Weichkäse

Nach dem Salzbad setzt die für alle Weichkäse charakteristische Reifung von außen nach innen ein. Zunächst wird die Oberfläche des Käses von Hefen besiedelt, die Milchsäure abbauen und somit die Vermehrungsbedingungen für die Schimmelpilzkultur und andere, weniger säuretolerante Mikroorganismen verbessern (LÜBENAU-NESTLE und MAIR-WALDBURG, 1968). Diese Entsäuerung schreitet von den Käseaußenschichten bis zum Käseinneren mehr (Weichkäse mit Schmiere) oder weniger (Weichkäse mit Schimmel) rasch fort und resultiert in einer unterschiedlichen Zusammensetzung der Keimflora in den Rand- und Innenschichten (TOLLE et al., 1980). In Camembert nahmen den Untersuchungen von TOLLE et al. (1981)

zufolge die Milchsäurewerte bei gleichzeitiger ausgeprägter Proteolyse und einem Anstieg der Gehalte an freien Fettsäuren bis zur 4. Woche (Lagerungstemperatur 6 °C) deutlich ab und es wurden in der Randzone pH-Werte von ca. 7,5 erreicht. Die höchsten pH-Werte um 8,0 lagen nach zehnwöchiger Lagerung vor. In der Mittelzone setzten Laktatabbau und Proteolyse langsamer ein als in der Randzone, folgten aber insgesamt dem dortigen Verlauf auf einem niedrigeren Niveau. Die pH-Werte und die Gehalte an freien Fettsäuren zeigten dagegen deutliche Unterschiede. So stieg der pH-Wert nach vier Wochen nur auf ca. 6,8 und erreichte nach zehn Wochen mit 7,7 sein Maximum. Eine starke Abhängigkeit des pH-Wert-Verlaufs von der Reifungstemperatur stellten GRIEM (1982) sowie KAMMERLEHNER und KESSLER (1983) fest. Nach vier Wochen Lagerung bei 5 °C wurden in Rand- und Mittelschichten pH-Werte von ca. 6,3 bzw. ca. 5,1 gemessen, während bei 12 °C Anstiege auf ca. 7,3 bzw. 6,5 zu verzeichnen waren. Nach zwölfwöchiger Lagerung waren die Werte unabhängig von der Lagerungstemperatur sowohl in den Rand- als auch in den Mittelzonen einander nahezu angeglichen (GRIEM, 1982). Bei Weinkäse waren nach GRIEM (1982) die Unterschiede hinsichtlich der pH-Werte in den Rand- und Mittelzonen deutlicher (nach zwei Wochen ca. 6,7 bzw. 4,8) als bei Camembert. Vor allem lief aber die Entsäuerung, bedingt durch die Aktivität der Schmierflora, auch bei niedrigerer Lagerungstemperatur, bedeutend schneller ab.

Nach den vorliegenden Untersuchungen ergeben sich für die Enterobacteriaceae-Flora aus den geschilderten Reifungsbedingungen folgende Konsequenzen:

Die Zahlen an Coliformen zeigten in Camembert nach Untersuchungen von TOLLE et al. (1984 a) in einem Lagerungszeitraum von insgesamt sieben bis neun Wochen je nach der Höhe der Lagerungstemperatur einen entsprechend starken Anstieg, der bei den Proben mit einem niedrigen und mittleren Coliformen-Ausgangsgehalt zwischen einer und vier (6 °C) bzw. fünf (12 °C) bzw. sechs (18 °C) Zehnerpotenzen lag. Dabei dominieren nach acht Wochen Lagerung bei 6 °C Enterobacter-, Serratia- und Hafnia-, bei 12 °C C. freundii, Enterobacter- und Klebsiella-Arten und nach vier Wochen bei 18 °C

- die Käse waren bei dieser Temperatur nicht länger lagerungsfähig - durchweg *C. freundii*.

Auch GRIEM (1982) registrierte einen ausgeprägten Einfluß der Lagerungstemperatur auf die Vermehrung der Enterobacteriaceae. So erreichten sie bei 12 °C bis zur vierten Woche Werte von 10^8 /g. Die *E. coli*-Gehalte stiegen in diesem Zeitraum auf 10^5 /g. Dem folgte eine Reduktion der Keimzahlen bis zur zwölften Woche, die bei *E. coli* deutlicher ausgeprägt war als bei den übrigen Enterobacteriaceae. Bei 5 °C war ein kontinuierlicher Anstieg der Enterobacteriaceae-Zahlen bis zur zwölften Woche auf Werte von 10^6 /g zu verzeichnen. Die *E. coli*-Gehalte nahmen dagegen stetig ab. Hinsichtlich der übrigen nachgewiesenen Enterobacteriaceae-Gattung bzw. Spezies war ein relativ starker Einfluß der Temperatur und der Reifungsvorgänge sowie der betriebsspezifischen Flora zu beobachten. So zeigte sich im Verlauf der Reifung eine Dominanz von *Hafnia*, die temperaturunabhängig war, während die ebenfalls dominierende Spezies *C. freundii* zwar regelmäßig, in größeren Mengen jedoch nur bei 12 °C vorkam. Ähnliche Beobachtungen machten MOURGUES et al. (1977), RUTZINSKI et al. (1979), TOLLE et al. (1980) und SCHMIDT-LORENZ et al. (1983).

Einigen Untersuchungen sind speziell Angaben zum Verhalten von *E. coli* im Verlauf der Weichkäsereifung zu entnehmen. Die Ergebnisse von GRIEM (1982) wurden oben bereits referiert. Nach TOLLE et al. (1981) stieg bei Camembert die Zahl an *E. coli* in der Randzone in der ersten Reifungswoche um ca. eine Zehnerpotenz an, blieb bis zur dritten Woche in dieser Höhe bestehen und zeigte danach eine abfallende Tendenz mit uneinheitlichem Verlauf in den einzelnen Proben. Am Ende der achten Woche war *E. coli* in der Randzone nicht mehr nachweisbar. Im Inneren der Käse blieb der *E. coli*-Gehalt vom Zeitpunkt des Verpackens an bis zum Ende der sechsten Reifungswoche konstant auf einem niedrigeren Niveau als in der Randzone und fiel danach stark ab, so daß nach der achten Woche die Befunde negativ waren. Über ähnliche Befunde berichten auch andere Autoren wie PARK et al. (1973), FRANK et al. (1977) und MOURGUES et al. (1977), nach deren Angaben künstlich kontami-

nierte Camembertkäse innerhalb einer Reifungsdauer von bis zu 80 Tagen frei von *E. coli* waren. Auf die Geschwindigkeit des Keimzahlabfalls hatten Lagerungstemperatur und Starterkultur wesentlichen Einfluß. Andererseits beobachteten FANTASIA et al. (1975) für enteropathogene *E. coli* in Weichkäse sowohl bei zehntägiger Lagerung bei Zimmertemperatur als auch bei 4 °C eine deutliche Erhöhung der Keimzahl und FRANK et al. (1977) auf der Oberfläche von Camembert Wachstum sowohl enteropathogener als auch nichtenteropathogener Stämme.

SCHMIDT-LORENZ et al. (1983) registrierten einen zwar langsamen aber kontinuierlichen Anstieg der Gehalte an "Fäkalcoliformen" im Verlauf der Reifung und Lagerung von Camembert (siehe Seite 25). Am dritten Tag der Reifung lagen die Werte im Bereich von 10^3 /g, bei der letzten Untersuchung am 43. Tag waren sie auf solche von über 10^4 /g angestiegen. Die Floraanalyse erbrachte, daß am achten Tag (Packtag) *E. coli* mit 68 % der geprüften Isolate dominierte, gefolgt von *Citrobacter* (24 %) und *Enterobacter* (8 %). Danach nahm der *E. coli*-Anteil rasch ab, so daß bei der letzten Untersuchung nur noch *Citrobacter* gefunden wurde.

In Weichkäse mit Schmierebildung (Limburger) fanden TOLLE et al. (1984 a) ebenfalls eine Temperaturabhängigkeit der Vermehrung von Enterobacteriaceae, die allerdings, was auch die Ergebnisse von GRIEM (1982) bestätigen, nicht so deutlich ausgeprägt zu sein scheint wie beim Camembert. Bei Lagerungstemperaturen von 6 und 12 °C erfolgten in den ersten beiden Wochen relativ geringgradige Anstiege der Coliformen-Gehalte, gefolgt von einem Abfallen der Werte. Auch bei 18 °C war nur ein kurzfristiger Anstieg zu verzeichnen. Bereits in der vierten Woche waren die Zahlen wieder unter die der ersten gesunken.

In den von GRIEM (1982) untersuchten Weinkäsen dominierten nach sieben Tagen Reifung *Hafnia* und *E. coli*. Nach sechswöchiger Lagerung bei 5 °C traten *Proteusspezies* in den Vordergrund, die bei 12 °C als einzige Vertreter der Enterobacteriaceae anzutreffen waren. Dies könnte durch die starke lipolytische und proteo-

lytische Aktivität der Schmiereflora erklärbar sein.

2.3.4 Vorkommen von Enterobacteriaceae in Weichkäse

In den Tabellen 6 - 8 sind Angaben aus dem Schrifttum zum Vorkommen von Enterobacteriaceae, getrennt nach Gesamt-Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen", zusammengefaßt.

Tabelle 6: Vorkommen von Enterobacteriaceae in Weichkäse
(nach Literaturangaben)

Produkt	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
Camembert, Brie	119	43,7	$> 10^6$	BECK und MANTEL (1974)
Weichkäse mit Schimmel	37	100	$\bar{x} = 4,8 \times 10^5$	GRIEM (1982)
Weichkäse mit Schmiere	30	100	$\bar{x} = 2,0 \times 10^5$	"
Weichkäse	12	91,7	$5 \times 10^5 - 3 \times 10^8$	OTTE (1976)
Weichkäse	12	100	$4 - 3,9 \times 10^5$	HANGST und GLAESER (1984)

Tabelle 7: Vorkommen von Coliformen in Weichkäse
(nach Literaturangaben)

Produkt	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
Weichkäse	12	83,3	$\geq 10^3$	OTTE (1976)
Weichkäse	188	69,7	$\leq 10^2$	COLLINS- THOMPSON et al. (1977)
		12,2	$> 10^2 - 1,6 \times 10^3$	
		18,1	$> 1,6 \times 10^3$	
Camembert	32	65,6	$\leq 10^2$	
		25,1	$> 10^2 - 1,6 \times 10^3$	
		9,3	$> 1,6 \times 10^3$	
Weichkäse	24	12,5	$\bar{x} = 13$	RAY und SPECK (1978)
Weichkäse	117	1,7	$\leq 10^2$	TESONE und QUEVEDO (1978)
		65,8	$> 10^2 - \leq 10^5$	
		32,5	$> 10^5$	
Camembert Randzone Mittelzone	97	./.	$x_G = 3,5 \times 10^6$ $x_G = 1,0 \times 10^6$	TOLLE et al. (1980)
Weichkäse	12	83,3	$40 - 1,1 \times 10^6$	HANGST und GLAESER (1984)
Weichkäse	407	50,0	$\leq 2,0 - 3,0 \times 10^6$	TOLLE et al. (1984 a)
		90,0	$\leq 5,0 \times 10^7$	

Tabelle 8: Vorkommen von "Fäkalcoliformen" in Weichkäse
(nach Literaturangaben)

Produkt	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		
Weichkäse	188	82,4	$< 10^1$	COLLINS- THOMPSON et al. (1977)
		12,8	$> 10^1 - 10^2$	
		2,7	$> 10^2 - 5,0 \times 10^2$	
		2,1	$> 1,6 \times 10^3$	
Weichkäse	25	60,0	$\leq 10^1$	FRANK und MARTH (1978)
		12,0	$> 10^1 - 10^2$	
		8,0	$> 10^2 - 10^3$	
		20,0	$> 10^4$	
Weichkäse	117	25,6	$\leq 10^2$	TESONE und QUEVEDO (1978)
		41,9	$> 10^2 - \leq 10^4$	
		32,5	$> 10^4$	
Camembert	100	./.		TOLLE et al. (1980)
Randzone			$x_G = 25$	
Mittelzone			$x_G = 10$	
Camembert	191	./.		FRANKE (1982)
Randzone		50,8	$< 10^1$	
		30,4	$\geq 10^3$	
		2,6	$\geq 10^5$	
Mittelzone		56,5	$< 10^1$	
		20,4	$\geq 10^3$	
		1,6	$\geq 10^5$	
Weichkäse mit Schimmel	37	97,3	$\bar{x} = 9,8 \times 10^3$	GRIEM (1982)
Weichkäse mit mit Schmiere	28	100	$\bar{x} = 3,9 \times 10^3$	

2.4. Verhalten und Vorkommen von Enterobacteriaceae bei der Herstellung und Reifung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse

Anders als im Ausland, wo auch Rohmilch bei der Produktion bestimmter Schnittkäsesorten verarbeitet wird, stellt man, wie dem Handbuch der Käse (MAIR-WALDBURG, 1974) zu entnehmen ist, in der Bundesrepublik Deutschland Schnittkäse und halbfeste Schnittkäse generell aus pasteurisierter Milch her. Dies ist allerdings nicht vorgeschrieben. Eine Belastung des Käses mit Enterobacteriaceae wird daher bei inländischer Ware in der Regel auf eine Rekontamination zurückzuführen sein. Die bereits unter 2.3 für Weichkäse angesprochenen Möglichkeiten hierzu treten in entsprechender Weise auch bei der Fertigung von Schnittkäse auf.

2.4.1 Definition und Herstellung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse

Nach den Vorschriften der Käseverordnung vom 19. Februar 1976 wird für die Käsegruppe "Schnittkäse" ein Wassergehalt in der fettfreien Käsemasse von mehr als 54 % bis 63 %, für die Käsegruppe "halbfeste Schnittkäse" von mehr als 61 % bis 69 % gefordert. Die Gruppe der Schnittkäse umfaßt die Untergruppen (MAIR-WALDBURG, 1974) Käse mit Schmiere (Standardsorte lt. Anlage 1 der Käse-VO: Tilsiter) und Käse ohne Schmiere (Standardsorten lt. Anlage 1 der Käse-VO: Gouda, Edamer und Wilstermarschkäse). Als halbfeste Schnittkäse werden in der Käse-VO Steinbuscher, Edelpilzkäse, Butterkäse und Weißlacker als Standardsorten genannt.

Beide Käsegruppen umfassen eine solche Vielzahl von Standard- und freien Sorten, daß eine Besprechung der Herstellungsverfahren auf die Beispiele Edamer und Butterkäse beschränkt werden soll.

Zur Produktion von Edamer wird der Kesselmilch 0,5 - 1,0 % Säurewecker zugesetzt und je nach Fettstufe zwischen 29 und 33 °C eingelabt; die Dickungsdauer beträgt ca. 1/2 Stunde. Nach dem Schneiden der Gallerte wird bei Labtemperatur der etwa erbsengroße Bruch 25 - 30 min in Bewegung gehalten; nach kurzem Absitzen werden 20 - 30 % (gelegentl. bis 40 %) der Molke entfernt. Das anschließende

Waschen und Nachwärmen des Bruches erfolgt entweder durch Zugabe von Wasser von etwa Labtemperatur unter gleichzeitiger Erwärmung oder durch Zugabe von 40 - 50 °C (gelegentl. bis 60 °C) heißem Wasser, um im Bruch für ca. 50 - 60 min eine Temperatur zwischen 36 °C und 40 °C (je nach Fettgehalt im Käse) unter Rühren zu erreichen. Anschließend schiebt man den Bruch zusammen und preßt ihn nach Abzug der Molke ca. 20 - 30 min vor. Der entstandene "Bruchkuchen" wird daraufhin geschnitten, in Formen verbracht - dieser Vorgang nimmt ca. 5 - 10 min in Anspruch -, evt. eingetucht und gewendet. Der nun folgende Preßvorgang dauert insgesamt ca. 2 - 3 Stunden. Nach 3/4 bis 1 Stunde werden die Käse "umgetucht" und in der Presse umgelegt. Anschließend liegen die Käse für die Dauer von ca. 2 - 3 Tagen in einem Salzbad (18 - 20 % NaCl) von etwa 16 °C und danach in Reifungskellern 3 - 4 Wochen bei 12 - 14 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von rund 80 %. Während dieser Zeit werden die Käse zwei- bis dreimal gewaschen und gut getrocknet, um Schimmelbildung zu vermeiden. Anschließend erfolgt das Wachsen der Produkte in 120 - 130 °C heißem Käsewachs. Als weitere Methoden der Haltbarmachung wären im Anschluß an das Salzen entweder das Frühwachsen nach 2 - 3 tägigem Abtrocknen oder die Folienreifung bei ca. 12 - 14 °C nach dem Trocknen möglich.

Da die pH-Wert-Verhältnisse bei der Fertigung und Reifung auf Wachstum bzw. Reduktion von Enterobacteriaceae einen wesentlichen Einfluß ausüben, sind in Tab. 9 die pH-Wert-Kennzahlen der einzelnen Produktionsabschnitte bei der Schnittkäseherstellung wiedergegeben.

Die Herstellung von Butterkäse als Vertreter der halbfesten Schnittkäse unterscheidet sich von der des Schnittkäses durch höhere Säureweckerzugaben, höhere Labtemperatur und kürzere Dikungszeit. Der Bruch wird nach Abzug von 50 % Molke und nach dem Waschen mit der Form geschöpft und 3 - 5 mal bei einer Raumtemperatur von 38 - 40 °C gewendet (zum Teil werden die Formen in Wärmemischen gehalten). Nach 4 Stunden werden die Käse für 16 - 18 Stunden in das Salzbad verbracht (23 - 24 °C) und nach Abtrocknung

für 30 Tage bei 5 - 6 °C und ca. 90 % relativer Luftfeuchtigkeit im Reifungskeller gelagert. Während dieser Zeit werden sie 4 - 6 mal geschmiert. Teilweise werden die Käse auch 2 - 3 Tage nach dem Salzen in Schrumpffolien verpackt und bei 6 °C weitergereift.

Tabelle 9: pH-Wert-Kennzahlen in den einzelnen Produktionsabschnitten beim Schnittkäse (KAMMERLEHNER, 1970)

Fabrikationsprozeß	Tilsiter pH	Edamer pH	Gouda pH
Käseereimilch vor dem Einlaben	6,48 - 6,55	6,53 - 6,58	6,50 - 6,55
Molke vor dem Waschen bzw. Nachwärmen	6,33 - 6,45	6,48 - 6,54	6,47 - 6,52
Molke-Wasser-Gemisch nach dem Nachwärmen	6,35 - 6,40	6,57 - 6,59	6,55 - 6,57
Molke-Wasser-Gemisch vor dem Formen des Bruches	6,20 - 6,30	6,47 - 6,49	6,46 - 6,48
Käse vor dem Salzbad ^{*)}	5,35 - 5,65	6,00 - 6,10	5,85 - 6,05
Käse nach dem Salzbad ^{*)}	5,10 - 5,20	5,20 - 5,25	5,15 - 5,25
Käse im Alter von 30 Tagen	5,30 - 5,40	5,29 - 5,34	5,28 - 5,32

^{*)} Das Salzbad sollte stets auf einem pH-Wert von 5,1 bis 5,3 gehalten werden.

Die Angaben zur Herstellung von Schnittkäse wurden dem Handbuch der Lebensmittelchemie (MAIR-WALDBURG, 1968) und dem Handbuch der Käse (MAIR-WALDBURG, 1974) entnommen. Die im folgenden re-

ferierten Untersuchungen weichen hinsichtlich Temperatur und Dauer einzelner Produktionsschritte davon zum Teil ab.

2.4.2 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Herstellung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse +)

Hinsichtlich der Coliformengehalte der Kesselmilch gehen die Angaben im Schrifttum weit auseinander. So fand WINTERER (1976) nur in zwei von zehn Proben aus einem Gouda produzierenden Käsereibetrieb Coliforme in einer Größenordnung von ein bzw. zwei Keimen/ml. Höhere Werte, nämlich 45 Coliforme/ml ermittelten SUKHOTSKENE und STASAITITE (1980) in frisch pasteurisierter bzw. 3,5 h im Kessel gelagerter erhitzter Milch, die zur Herstellung von "Dutch-cheese" vorgesehen war. Dagegen lag in einigen österreichischen Exportbetrieben die Kontaminationsrate im Stapeltank bei 2,7 % mit Keimgehalten zwischen 2 und 2×10^3 /ml, in der Kesselmilch am Einlauf in den Käsefertiger bei 9,9 % mit Keimgehalten zwischen 2 bis über 2×10^3 Coliformen/ml (BRANDL, 1984). Nach Ausschalten verschiedener Kontaminationsquellen sanken die Coliformen-Gehalte bei erneuten Untersuchungen in diesen Betrieben auf einen Gehalt zwischen 2 bis 10^2 Keimen/ml in 1,3 % bzw. 3,8 % der Proben im Stapeltank bzw. der Kesselmilch.

Im Verlauf der Käseherstellung beeinflusst hauptsächlich die Aktivität der Starterkulturen die weitere Entwicklung der Enterobacteriaceae (GINZINGER und OSL, 1983). Wie aus Untersuchungen von WILLIS et al. (1982) während der Produktion von Bonbel und Bonbino hervorgeht, kann eine höhere Nachwärmtemperatur eine verstärkte Laktoseverwertung und damit eine intensivere Säuerung im Bruch bewirken. Die Art des eingesetzten Säureweckers scheint jedoch nach Untersuchungen von FRYER (1974) auf die Entwicklung der Coliformen keinen Einfluß zu haben, vielmehr ist ein zügiger Abfall des pH-Wertes für deren Hemmung entscheidend. So muß mit einem zehnfachen Anstieg des Coliformen-Gehaltes im

+) Zur besseren Übersichtlichkeit wird im folgenden die Produktion in die Abschnitte Herstellung (2.4.2) und Reifung/Lagerung (2.4.3) unterteilt, obwohl beide Phasen ineinander übergehen und nicht streng zu trennen sind.

20 h alten Gouda gerechnet werden, wenn ein pH-Wert von 5,4 innerhalb von 3 - 4 h nach dem Pressen erreicht wird. Eine 100fache Erhöhung ergibt sich dagegen aus einem pH-Wert-Abfall, der die Grenze von 5,4 erst nach über 5 h unterschreitet.

Ähnlich wie bei Weichkäse kommt es während der frühen Phasen der Käsefertigung zu einer starken Vermehrung der Enterobacteriaceae. So berichten WINTERER (1976), SUKHOTSKENE und STASAITITE (1980) sowie GALLMANN und PUHAN (1983) von einem Anstieg der Coliformenzahlen bis zum 10^4 fachen. Das Wachstum wird dabei wesentlich von der Ausgangskeimzahl beeinflusst. Demnach vermehrten sich die Coliformen (GALLMANN und PUHAN, 1983) bei der Käseherstellung aus Rohmilch, deren Keimgehalt bei 2×10^2 /ml lag, auf $1,5 \times 10^6$ /g im jungen Käse, wogegen bei der Produktion aus pasteurisierter Milch nur zwischen 10^2 und 10^3 /g erreicht wurden.

Nach dem Pressen des Bruches ermittelten WILLIS et al. (1982) in Bonbel ca. 80, in Bonbino ca. 350 Coliformen/g. In Verlaufsuntersuchungen an Steppenkäse fand VIKTOR (1984) in dieser Phase der Produktion einen Enterobacteriaceae- bzw. "Fäkalcoliformen"-Gehalt von ca. 10^3 /g.

Bis zum Zeitpunkt nach dem Salzen schreitet die Säuerung zum niedrigsten pH-Wert fort, der für die jeweilige Käsesorte typisch ist. Er beträgt nach Untersuchungen von KAMMERLEHNER (1970) für Tilsiter 5,10 - 5,20, für Edamer 5,20 - 5,25 und für Gouda 5,15 - 5,25 (vgl. Tab. 9). Dementsprechend steigen die Keimzahlen auch nur noch geringfügig an (VIKTOR, 1984).

2.4.3 Entwicklung der Enterobacteriaceae-Flora bei der Reifung und Lagerung von Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse

Während bei Weichkäse im Verlauf der von außen nach innen ablaufenden Reifungsvorgänge eine allmähliche Entsäuerung eintritt und so für die Enterobacteriaceae wieder bessere Wachstumsbedingungen gegeben sind (siehe 2.3), bleiben bei Schnittkäse die pH-Werte relativ konstant in einem niedrigen Bereich (siehe Tab. 9 sowie die

Arbeiten von WILLIS et al., 1982 und VIKTOR, 1984). Außerdem kommt es zu einer Reduktion des Wassergehaltes, der z.B. in Bonbel nach einmonatiger Lagerung auf 45,2 %, in Bonbino auf 40,6 % Feuchtigkeit absank (WILLIS et al., 1982). Im Verlauf der Reifung und Lagerung von Schnittkäsen ist daher mit einer wesentlichen Vermehrung von Enterobacteriaceae nicht zu rechnen (WINTERER, 1976; WILLIS et al., 1982; GINZINGER und OSL, 1983). Stattdessen scheint im allgemeinen eine Tendenz zur Abnahme der Keimzahlen beobachtet zu werden. So sank in Untersuchungen von GALLMANN und PUHAN (1983) an Raclette-Käse bereits nach 30 Tagen die Zahl der Coliformen in Produkten aus pasteurisierter Milch unter die Erfassungsgrenze von 10 Keimen/g, wenn von einer maximalen Belastung zwischen 10^2 und 10^3 /g des acht Stunden alten Käses ausgegangen wurde. In Raclette aus Rohmilch (höchste Belastung nach acht Stunden von ca. 10^6 Coliformen/g) konnten nach 120 Tagen noch ca. 10^2 Keime/g nachgewiesen werden.

WINTERER (1976) beobachtete bei Gouda nach einem starken Anstieg der Coliformen-Zahlen innerhalb der ersten 24 h der Produktion über 14 Tage zunächst ein ungefähres Gleichbleiben der Gehalte und einen langsamen Abfall bis zur Konsumreife. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch GINZINGER und OSL (1983) bei Edamer, die einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Säuerungsaktivität der Säurewecker und den Coliformengehalten im Käse registrierten. Der Rückgang des Coliformen-Gehaltes in Bonbel und Bonbino während der Reifung geht nach Untersuchungen von WILLIS et al. (1982) unterschiedlich schnell vor sich. Während in nur 30 % der Proben von Bonbel-Käse nach drei Monaten die Coliformen-Zahl der unteren Nachweisgrenze von einem Keim/g unterschritten hatte, lag der prozentuale Anteil von Bonbino-Käsen, deren Keimgehalt ebenfalls unter die Nachweisgrenze gesunken war, nach zwei und vier Monaten schon bei 54 %, nach sechs Monaten bereits bei 75 %. Diese Unterschiede könnten nach den Untersuchungen über die chemischen Veränderungen während der Reifung dieser beiden Schnittkäsesorten von WILLIS et al. (1982) auf den niedrigeren Wassergehalt und pH-Wert und die höhere Konzentration von freien Fettsäuren im Bon-

bino-Käse im Vergleich zum Bonbel-Käse zurückgeführt werden.

Einen von den bisher referierten Ergebnissen etwas abweichenden Verlauf zeigen die Untersuchungen von VIKTOR (1984) an Steppen-käse. Während Produktion, Reifung und Lagerungsverringerten sich nach dem Salzen (3. Tag nach Herstellungsbeginn) bis zum 14. Tag (vor dem Wachsen) die Enterobacteriaceae- bzw. "Fäkalcoliformen"-Zahlen um ca. eine Zehnerpotenz. Während der Enterobacteriaceae-Gehalt bis zum 28. Tag, dem Zeitpunkt des Verpackens, auf das Ausgangsniveau nach dem Salzen anstieg, blieb der "Fäkalcoliformen"-Gehalt abgesehen von geringen Schwankungen nahezu konstant. Bis zum 61. - 69. Tag nach Herstellung folgt ein Absinken der Keimzahlen um ca. eine Zehnerpotenz, um anschließend bis zum 124. - 159. Tag wieder mehr ("Fäkalcoliformen") oder weniger (Enterobacteriaceae) anzusteigen.

Über die Verteilung der Coliformen innerhalb eines Schnittkäse-blocks werden unterschiedliche Angaben gemacht. So konnte BRANDL (1979) in Tilsiter signifikant höhere Coliformen-Gehalte in der Mitte des Käsestücks nachweisen. Die Konzentration erwies sich achtmal so hoch im Zentrum wie in den Randpartien. Ähnliche Verhältnisse lagen in Edamer vor. Untersuchungen an Edamer- und Tilsiterkäsen von GINZINGER (1979) zufolge konnten keine systematischen Keimzahlunterschiede an verschiedenen Probeentnahmestellen nachgewiesen werden, abgesehen von drei Tilsiterproben mit relativ hohem Coliformen-Gehalt, in denen die Coliformen-Zahlen im Zentrum die der Randpartien übertrafen. WINTERER (1976) stellte statistisch gesicherte Unterschiede zwischen Rand und Zentrum in Gouda nur bei gleichzeitigem Vorliegen hoher Coliformen-Zahlen fest.

Differenzierungen der Enterobacteriaceae-Flora, wie sie GRIEM (1982) durchführte, erbrachten, ähnlich wie im Fall der Weich-käse (siehe 2.3.3), bei handelsreifen Schnittkäsen mit Schmiere (Tilsiter) eine Dominanz der Proteusspezies (12,0 % *P. vulgaris*, 0,9 % *P. mirabilis* und 38,5 % Proteusspezies, die nicht in die bestehende Proteusnomenklatur eingeordnet werden konnten). Die Ausbildung der Oberflächenschmiere, die in Tilsiter ab der vier-

ten Woche eine verstärkte Proteolyse bewirkt (GINZINGER und OSL, 1983), dürfte zusätzlich durch ihre lipolytische Aktivität, ähnlich den Vorgängen bei Weichkäse mit Schmiereflora, offensichtlich günstige Voraussetzungen für die Entwicklung von *Proteus* schaffen. Weiter war bei den Untersuchungen von GRIEM (1982) *E. coli* mit 29,0 % vertreten, gefolgt von *C. freundii* mit 10,2 %, *Hafnia* mit 6,8 %, *K. aerogenes* mit 1,7 % und *E. cloacae* mit 0,9 % der Isolate. Auch in Raclette-Käse aus Rohmilch ergaben die Differenzierungen der isolierten Coliformen *E. coli* als Hauptvertreter (GALLMANN und PUHAN, 1983).

In handelsreifem Schnittkäse ohne Schmiere stellte mit 47 % der Isolate *E. coli* den Hauptanteil gefolgt von 24,8 % *K. aerogenes* und 23,5 % *Hafnia*. Daneben konnten noch *E. cloacae* mit 2,0 %, *C. freundii* mit 1,3 %, *E. agglomerans* und *Proteus*spezies mit je 0,7 % isoliert werden (GRIEM, 1982). LÜCK und DUNKELD (1981) kamen bei ihrer Enterobacteriaceae-Differenzierung in 130 Proben von vier bis acht Wochen altem Käse (94 Gouda neben 24 Cheddar-Käsen) zu einem ähnlichen Verteilungsmuster (46 % *E. coli*, 20 % *K. pneumoniae*, 9 % *Hafnia alvei*, 7,7 % *Enterobacter* spp. und 4,6 % *C. freundii*).

2.4.4 Vorkommen von Enterobacteriaceae in Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse

Den Tabellen 10 - 12 sind Angaben aus dem Schrifttum zum Vorkommen von Enterobacteriaceae, getrennt nach Gesamt-Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen", zu entnehmen.

Tabelle 10: Vorkommen von Enterobacteriaceae
in Schnittkäse
(nach Literaturangaben)

Produkt	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
Schnittkäse	15	46,7 ⁺ 40,0 ⁺⁺	$5,0 \times 10^4 - 2,0 \times 10^7$ $5,0 \times 10^4 - 2,0 \times 10^7$	OTTE (1976)
Schnittkäse	35	94,3	$\bar{x} = 3,4 \times 10^3$	GRIEM (1982)
Schnittkäse	38	68	bis $1,1 \times 10^5$	VIKTOR (1984)

⁺) bei 25 °C bebrütet

⁺⁺) bei 37 °C bebrütet

Tabelle 11: Vorkommen von Coliformen
in Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse
(nach Literaturangaben)

Produkt	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
Schnittkäse +)	102	76,5 19,6 3,9	$\leq 10^2$ $> 10^2 - 5,0 \times 10^2$ $> 5,0 \times 10^2 - 1,6 \times 10^3$	COLLINS- THOMPSON et al. (1977)
halbfeste ++) Schnittkäse	227	75,8 10,6 13,6	$\leq 10^2$ $> 10^2 - 1,6 \times 10^3$ $> 1,6 \times 10^3$	"
./.	164	22	$> 10^3$	ELLIOTT (1978)
./.	130	46	$\geq 10^3$	LÜCK und DUNKELD (1981)
"Pategras" (Gouda)	142	43,6 44,4 12,0	$\leq 10^2$ $> 10^2 - < 10^3$ $\geq 10^3$	TESONE et al. (1981)
Raclette (past. Milch) (30 Tage alt)	6	100	$\bar{x} < 10$	GALLMANN (1982)
Raclette (Rohmilch) (120 Tage alt)	6	100	$\bar{x} = 60$	

Fortsetzung zu

Tabelle 11: Vorkommen von Coliformen
in Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse
(nach Literaturangaben)

Produkt	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
Bonbel (3 Mon. alt)	8	70,0	8,7	WILLIS et al. (1982)
Bonbino (6 Mon. alt)	10	25,0	3,8	

+) Diese unter "hard cheeses" zusammengefaßte Gruppe enthält neben Schnittkäse auch Hartkäse im Sinne der Käse-VO.

++) Diese unter "semi-soft-cheeses" zusammengefaßte Gruppe enthält neben halbfestem Schnittkäse auch Weichkäse im Sinne der Käse-VO.

Tabelle 12: Vorkommen von "Fäkalcoliformen"
in Schnittkäse und halbfestem Schnittkäse
(nach Literaturangaben)

Produkt	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
halbfeste Schnittkäse ⁺)	191	87,5 10,5 1,0 1,0	$\leq 10^1$ $> 10^1 - 10^2$ $> 10^2 - 5,0 \times 10^2$ $> 1,6 \times 10^3$	COLLINS- THOMPSON et al. (1977)
halbfeste Schnittkäse ⁺)	81	35,8 17,3 16,0 14,8 16,0	$\leq 10^1$ $> 10^1 - 10^2$ $> 10^2 - 10^3$ $> 10^3 - 10^4$ 10^4	FRANK und MARTH (1978)
Gouda	94	95,0 43,0	$1,0 \rightarrow 5,0 \times 10^4$ $< 10^2$	LÜCK und DUNKELD (1981)
"Pategras" (Gouda)	124	74,6 14,8 10,6	$\leq 10^2$ $10^2 - < 5,0 \times 10^2$ $\geq 5,0 \times 10^2$	TESONE et al. (1981)
Schnittkäse	21	81,0	$\bar{x} = 3,5 \times 10^2$	GRIEM (1982)
Schnittkäse	28	61	$50 - 5,0 \times 10^4$	VIKTOR (1984)

⁺) Diese unter "semi-soft-cheese" zusammengefaßte Gruppe enthält neben halbfestem Schnittkäse auch Weichkäse im Sinne der Käse-VO.

2.5 Verhalten und Vorkommen von Enterobacteriaceae bei der Herstellung und Lagerung von Trockenmilchprodukten

Eine Pasteurisierung der Milch wird auch für die Herstellung von Trockenmilchprodukten vorgenommen. Wie schon in 2.2.3 dargestellt, überleben Enterobacteriaceae diesen Erhitzungsvorgang nicht (BUCHBINDER und ALFF, 1947; von GAVEL, 1960; ABO-ELNAGA, 1966). Nach MILLER et al. (1972) wurden Rekontaminationsmöglichkeiten in den verschiedenen Produktionsanlagen zur Herstellung von getrockneten Lebensmitteln durch Untersuchungen aufgezeigt. Dazu konnten im Schrifttum leider keine näheren Angaben gefunden werden. Studien von SULLIVAN (1979) u.a. über den Coliformengehalt in der Luft von Milch verarbeitenden Betrieben machen das Rekontaminationsrisiko aus der die Anlagen und Produkte umgebenden Atmosphäre deutlich.

2.5.1 Definitionen und Herstellung von Trockenmilchprodukten

Entsprechend der Verordnung über Milcherzeugnisse vom 15. Juli 1970, Anlage 1 werden der Gruppe Trockenmilcherzeugnisse solche Produkte zugeordnet, die durch weitgehenden Entzug des Wassers aus Milch (mitunter auch durch Bakterienkulturen gesäuert), Buttermilcherzeugnissen oder Sahneerzeugnissen hergestellt werden. Als Standardsorten werden Milchpulver mit hohem Fettgehalt von mindestens 42,0 % (Sahnepulver, Rahmpulver), Milchpulver mit mindestens 26,0 % Fett (Vollmilchpulver), teilentrahmtes Milchpulver mit mehr als 1,5 % aber weniger als 26,0 % Fett, Magermilchpulver mit höchstens 1,5 % Fett und Buttermilchpulver mit höchstens 15,0 % Fett genannt.

Da zu den eigenen Untersuchungen nur Säuglings- und Kleinkinder-nahrung auf Trockenmilchbasis herangezogen wurde, soll die Darstellung der Herstellungsverfahren auf diese Produktgruppe beschränkt werden. Nach HALL und HEDRICK (1971) ist deren Produktion mit der Herstellung von Trockenmilchpulver vergleichbar. Hierbei sind Sprühtrocknung, Schaum-Sprüh-Trocknung ⁺⁾ und Walzen-

⁺⁾ Nach HOSTETTLER (1968) neben der Schaumschichttrocknung eine Art der Schaumtrocknung bei atmosphärischem Druck im Gegensatz zur Vakuum-Schaumtrocknung.

trocknung zu unterscheiden. Beim ersten Verfahren wird zunächst eine Standardisierung der Milch auf einen Fettgehalt von 3,2 % vorgenommen, um im getrockneten Produkt einen Gehalt von 26 % Fett zu erreichen. Vor oder nach diesem Prozeß findet eine Reinigung statt, um Leukozyten und sonstige, von außen eingedrungene Verunreinigungen zu entfernen. Anschließend wird die Milch mit einem Druck von 17 - 24 MPa bei 62,8 - 73,9 °C ⁺⁾ homogenisiert. Nun folgt eine Vorerhitzung zwischen 82,2 °C über 15 min und 93,3 °C über 3 min ⁺⁾ und daraufhin die Pasteurisierung. Es schließt sich das Eindampfen der Milch auf 35 - 45 % Trockenmasse an. Das Kondensat befördert man aus dem Verdampfer über einen Wärmetauscher, in dem es wiederum auf eine Temperatur von 62,8 - 72,9 °C ⁺⁾ gebracht wird, in die Hochdruckpumpe. Bei einer Eintrittstemperatur von 148,9 - 232,2 °C ⁺⁾ wird die eingedampfte Milch in die Trockenkammer gesprüht. Die getrockneten Teilchen sedimentieren und verlassen sofort mit dem Heißluftstrom bei 73,9 - 93,3 °C ⁺⁾ diese Kammer. Anschließend wird das Produkt auf Raumtemperatur gekühlt, gesiebt, sofort verpackt oder 7 - 10 Tage unter Vakuum bis zur Verpackung gelagert.

Der Schaum-Sprüh-Trocknungs-Prozeß beginnt wie bei der Sprühtrocknung mit Standardisierung, Vorerhitzung und Homogenisierung der Milch. Im Verdampfer wird eine Konzentration der Trockenmasse von 50 % und mehr erreicht (vgl. konventionelles Sprühverfahren mit nur 35 - 45 %). Wenn das Konzentrat die Hochdruckpumpe mit 10 - 12 MPa ⁺⁾ verläßt, wird Stickstoff mit einem um mindestens 1,4 MPa ⁺⁾ höheren Druck in die eingedickte Milch verbracht und mit Hilfe einer Mischvorrichtung zwischen Pumpe und Öffnung der Trockenkammer darin verteilt. Die Trocknung erfolgt wie bei der konventionellen Sprühtrocknung.

Das Walzentrocknungsverfahren wird nach HALL und HEDRICK (1971) nur noch in geringem Maße angewandt. Dabei wird die Milch standardisiert auf einen Fettgehalt von 3,5 % bei 8,75 % fettfreier Trockenmasse, um im getrockneten Produkt 28 % Fett bei 2 % Wasser-

⁺⁾ Der Originaltext verwendet englische Maßeinheiten u.a. für Druck und Temperatur.

gehalt zu erreichen. Das danach pasteurisierte Produkt kann anschließend einer Homogenisierung zugeführt werden (17 - 20 MPa bei 62,8 - 76,7 °C ⁺⁾). Die Temperatur der Vorerhitzung wird jeweils nach der vorgesehenen Verwendung des Produkts eingestellt. Eine Konzentrierung der Milch ist nicht notwendig, sie soll jedoch bei Anwendung ca. 20 % Trockenmasse nicht überschreiten, um eine ungenügende Trocknung zu verhindern. Das Produkt wird mit einer Temperatur zwischen 73,9 °C und 85,0 °C ⁺⁾ auf die dampferhitzten Walzen verbracht. Je nach Dampfdruck in den Walzen, Geschwindigkeit der Walzen, Temperatur der eingepumpten Milch, Menge der Milch zwischen den Walzen, Viskosität der Milch und Abstand zwischen den Walzen können die Walzenkapazität und der Wassergehalt des getrockneten Endprodukts reguliert werden. Es bildet sich eine einheitliche dünne Schicht von Trockenmilch, die von der Walze geschabt wird und in eine Wanne fällt. Das Produkt wird in einer Mühle zerkleinert, gesiebt und verpackt. Für die Herstellung von Kleinkindernahrung auf Trockenmilchbasis werden verschiedene Abweichungen vorgenommen: Der Fettgehalt wird auf 6 % bis 10 % gesenkt, der Kohlehydrat-Anteil auf 25 % bis 45 % angehoben (mehr Laktose); auch erfolgt ein Zusatz von Vitamin C. Der Gehalt an löslichem Protein wird dem der menschlichen Milch angeglichen und der Salzanteil (Chloride, Sulfate und Nitrate) gesenkt. Das dem Produkt zugesetzte Fett ist pflanzlichen oder gemischt pflanzlichen und tierischen Ursprungs, um den Schmelzpunkt der Fette dem in der menschlichen Milch anzupassen. (Die Angaben zur Herstellung wurden von HALL und HEDRICK (1971) in "Drying of milk and milk products" gemacht).

Zur Herstellung von Säuglings- und Kleinkindernahrung findet auch die Normalvakuumtrocknung Anwendung, die aus dem wohl ersten und ältesten Verfahren der Teig- oder Pastentrocknung entwickelt wurde (HOSTETTLER, 1968). Diese Trocknung, die bei tieferer Temperatur in Vakuumschränken oder kontinuierlich in Vakuumbandtrocknern erfolgt, schafft die Voraussetzung für eine höhere Qualität des Endprodukts. Die Vorkonzentrierung bis zu Trockensubstanzgehalten

⁺⁾ Der Originaltext verwendet englische Maßeinheiten u.a. für Druck und Temperatur.

von 75 % erfolgt bei 50 - 55 °C Eindampfungstemperatur.

Neben den zur Herstellung von Säuglings- und Kleinkindernahrung beschriebenen Verfahren kann die Produktion von Trockenmilchprodukten als solchen auch unter Anwendung von Kälte (Ausfrieren von Wasser bzw. Gefriertrocknung) vorgenommen werden (HOSTETTLER, 1968).

In den folgenden Betrachtungen soll nur auf das Verhalten von coliformen Keimen als Vertreter der Enterobacteriaceae während der Herstellung und Lagerung von Trockenmilchprodukten eingegangen werden.

2.5.2 Verhalten von Coliformen während der Trocknung

Leider ließen sich der vorliegenden Literatur nur Angaben über das Verhalten von *E. coli* während des Sprühtrocknungsprozesses entnehmen.

Aus Untersuchungen von MILLER et al. (1972), CHOPIN et al. (1977) und THOMPSON et al. (1978) ergibt sich experimentell eine mehr oder weniger hohe Überlebensrate für *E. coli* beim Sprühtrocknungsvorgang; die Angaben schwanken zwischen 0,002 % und 0,46 %. In diesem Zusammenhang zeigt sich, daß die Höhe der Zahl der diesen Prozeß überdauernden Keime besonders abhängig von der Temperatur am Auslaß der Trockenkammer ist. Untersuchungen von THOMPSON et al. (1978) zufolge stieg die Überlebensrate von *E. coli* von 0,02 % über 0,21 % auf 0,46 % bei gleichzeitig sinkender Auslaßtemperatur von 93,3 °C über 82,2 °C auf 71,1 °C; andererseits variierten nach CHOPIN (1977) die Abtötungsraten um den Faktor 10^4 bei Temperaturen zwischen 65 °C und 105 °C, wenngleich sich die Zusammenhänge nicht in eine einfache mathematische Gleichung fassen lassen. Jedoch kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, daß die Bakterienabtötung in den meisten Fällen auf den Erhitzungseffekt während der letzten Trocknungsphase zurückzuführen ist, wenn die Temperatur der Pulverpartikel die der Luft am Auslaß erreicht. Als Ergebnis eigener Untersuchungen an speziellen *E. coli*- und Salmonellenstämmen und aus Untersuchungen an Salmonellen von Li

CARI und POTTER (1970) stellten MILLER et al. (1972) die Faktoren dar, die die Überlebensrate dieser Mikroorganismen bei der Sprühtrocknung beeinflussen. Trotz der Verdunstungskälte besteht danach anscheinend ein enger Zusammenhang zwischen den hohen Produkttemperaturen und der Zerstörungsrate von Bakterien. Ferner beeinflussen die Partikeldichte oder die Dicke der Partikelwand die Vernichtungsrate der Bakterienzellen. Je dünner die Kruste ist, um so mehr Keime werden abgetötet. Sehr unterschiedlich ist auch die Sensibilität der verschiedenen Stämme gegenüber der Sprühtrocknung. Die Ursachen dafür konnten nicht erklärt werden. Ferner scheint die Höhe des Fettgehaltes des zu trocknenden Produkts Auswirkungen auf die Zerstörung von Bakterienzellen zu haben. Dieser Effekt ist möglicherweise auf die längere Erhaltung der Wärmeenergie in Fett zurückzuführen.

2.5.3 Verhalten von Coliformen während der Lagerung

Auch in diesem Zusammenhang konnten dem Schrifttum nur Erläuterungen über Untersuchungen mit *E. coli* entnommen werden. Wenngleich der Einfluß des Wassergehaltes im Trockenmilchprodukt auf die Absterberate der Keime, die das Sprühverfahren überdauert haben, während der Lagerung offensichtlich ist, so darf er jedoch nicht überbewertet werden (THOMPSON et al., 1978). Denn der langsame Rückgang der Zahl von Bakterien steht in einem engeren Zusammenhang mit der Höhe der Ausgangsbelastung nach dem Trocknen bei niedrigerer Temperatur, aus der ebenso der höhere Wassergehalt resultiert. Dennoch zeigen Untersuchungen von UZELAC und STILLE (1977) bzw. UZELAC (1978), daß *E. coli* in Trockenmilchprodukten (Eispulver, Kartoffelpüreepulver, gemahlenem Kaffee bzw. Magermilchpulver) nach künstlicher Kontamination mit 7×10^5 Keimen/g unterschiedliches Verhalten bei verschiedenen a_w - Werten ^{+) aufweist. So ist in den ersten Wochen der Lagerung unabhängig von Produkt und Wassergehalt ein mehr oder weniger rapider Abfall u.a.}

^{+) Wasseraktivität a_w : Anteil des Wassers in einem Lebensmittel, der nicht durch lösliche Substanzen wie Salze, Proteine oder Kohlehydrate gebunden ist und somit den Mikroorganismen zur Verfügung steht.}

der E. coli-Zahl ersichtlich (UZELAC und STILLE, 1977; THOMPSON et al., 1978; UZELAC, 1978). Die Zeitspanne dürfte der Dauer der Einstellung des hygroskopischen Gleichgewichtes entsprechen. Im weiteren Verlauf der Lagerung macht sich nun der Einfluß des a_W -Wertes ⁺⁾ und des jeweiligen Produkts stark auf die Lebens-, d.h. Vermehrungsfähigkeit der Keime bemerkbar. So konnte UZELAC (1978) in Magermilchpulver bei einem a_W -Wert von 0,11 nach einem Jahr noch ca. 80 und bei einem a_W -Wert von 0,33 ebenfalls nach einem Jahr noch 10 E. coli-Keime/g nachweisen, während bei einem Anteil des ungebundenen Wassers von 0,53 nach 16 Wochen bereits der E. coli-Gehalt unter die Nachweisgrenze gesunken ist. Dieses Produkt wies bei geringer Wasseraktivität (a_W -Wert: 0,11) nur z.T. bessere Überlebensbedingungen u.a. für E. coli auf, als in den von UZELAC und STILLE (1977) untersuchten Trockennahrungsmitteln (Eispulver, Kartoffelpüreepulver, gemahlenem Kaffee), während bei höheren a_W -Werten (0,33 und 0,53) diese Keime in Magermilchpulver bedeutend länger lebensfähig waren. Bei den erwähnten Vergleichsuntersuchungen von UZELAC und STILLE (1977) zeigte sich eine längere Überlebensdauer in Eispulver als in den anderen beiden Produkten. Ursache dafür könnte die in Eispulver enthaltene Saccharose sein, die nach MARSHALL et al. (1974) eine Schutzwirkung auf die Bakterien bei der Trocknung ausübt.

Für die Länge der Überlebensfähigkeit von Mikroorganismen kann neben der referierten Wasseraktivität im Produkt die Trockenheitsresistenz des jeweiligen Keimes verantwortlich sein.

2.5.4 Vorkommen von Enterobacteriaceae in Trockenmilchprodukten

In der Tabelle 13 sind Angaben aus der Literatur zum Vorkommen von Coliformen zusammengefaßt. Untersuchungen über die Zahl der Gesamt-Enterobacteriaceae von OTTE (1976) verliefen in zwölf Proben Trockenmilch bzw. Säuglingsnahrung negativ. MOSSEL und RATTO (1970) konnten in 40 Säuglingsnahrungen Enterobacteriaceae nachweisen, KRAMPE (1972) in 9 (15 %) von 60 Proben. Untersuchungen auf "Fäkalcoliforme" wurden nur von KÖNNING (1972) sowie SCHWAB et al. (1982) beschrieben. Erstere fand in einer von 60 Proben Säuglingsnahrung "Fäkalcoliforme", während nach SCHWAB et al. (1982) über 1300 Proben jeweils weniger als 3 "Fäkalcoliforme"/g aufwiesen.

⁺⁾ Wasseraktivität a_W : vgl. Seite 46!

Tabelle 13: Vorkommen von Coliformen in Säuglings- und Kleinkindernahrung
(nach Literaturangaben)

Produktbezeichnung der Autoren	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
Kindertrockenmilch	50	14,0	$\geq 10^2$ +)	ROEMMELE (1957)
Säuglingsnahrung	129	0,8 0,8	$\geq 10^1$ +) $\bar{x} = 3,5 \times 10^2$ o)	ROEMMELE und WESTPHAL (1957)
Säuglings-trockenmilch	65	0,0	./.	PUSCH (1958)
Säuglings- und Kindermilchpräparate	33	18,2	./.	BULLING (1959)
Trockenmilchpräparate	155	9,7 17,4 2,6	$10^1 - 10^3$ oo) $10^3 - 10^4$ $> 10^4$	RICHTER (1959)
Trockenmilchpräparate	70	2,9 15,7	$8,0 \times 10^2$ oo) $\bar{x} = 1,5 \times 10^4$	SCHÖNHERR (1962)
Fertignahrung für Säuglinge	122	0,0 1,6	./.	BONTEMPS und SIMON (1965)
Säuglingsnahrung	30	0,0	./.	HALL et al. (1967)
Säuglingsnahrung	6	16,7 16,7	./.	FROMM und STRAHTMANN (1970)

Fortsetzung von

Tabelle 13: Vorkommen von Coliformen in Säuglings- und Kleinkindernahrung
(nach Literaturangaben)

Produkt- bezeichnung	Anzahl der Proben	Anteil der Proben (%) mit <u>Keimgehalten</u> /g		Autor(en)
Breie auf Milch- basis	5	0,0 0,0	././ +) ././ ++)	FROMM und STRAHTMANN (1970)
Säuglingsnahrung	60	8,4 3,3	10^1 ooo) $\geq 10^1$ +++)	KRAMPE (1972)
Säuglingsnahrung	12	8,3	$\geq 10^1$ +++)	OTTE (1976)
Trockenmilch-	1329	0,2 0,14 0,08 0,08	3 9 23 75	SCHWAB et al. (1982)

- +) untersucht mit TTC-Bouillon
- ++) untersucht mit Galle-Gentianaviolett-Pepton-Milchzucker-Lösung
- +++) untersucht mit BGLB
 - o) untersucht mit Bromthymolblau-Trypaflavin-Laktose-Agar
- oo) untersucht mit TTC-Agar
- ooo) untersucht mit VRB

3. Eigene Untersuchungen

In den eigenen Untersuchungen sollten Proben von Konsummilch und verschiedenen Milchprodukten vergleichend auf ihren Gehalt an Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" untersucht werden. Unter letzteren wurden diejenigen Vertreter der Familie der Enterobacteriaceae verstanden, die bei erhöhter Bebrütungstemperatur (44 °C) Gas aus Lactose und Indol aus Tryptophan bilden konnten.

3.1 Material

Bei dem untersuchten Probenmaterial handelte es sich um pasteurisierte Konsummilch, Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Trockenmilchbasis, Weichkäse, Schnittkäse und bayerischen Cagliata (Käsehalbfertigprodukt zur weiteren Verarbeitung insbesondere in Italien). Das Untersuchungsmaterial entstammte mit Ausnahme der für den Export bestimmten Cagliata-Käseproben, die von dem Bayerischen Landesamt für Ernährungswirtschaft in München zur Verfügung gestellt wurden, dem Einzelhandel.

Die insgesamt 83 Proben im Zeitraum von Ende März bis Mitte Mai 1983 untersuchter pasteurisierter Konsummilch (Produkte von acht bayerischen Molkereien) gliederten sich auf in 71 Proben mit 3,5 % 2 Proben mit 3,7 % und 10 Proben mit 1,5 % Fettgehalt. Die Untersuchung fand jeweils am Tag des Einkaufs statt. Die gemäß § 2 der Konsummilch-Kennzeichnungs-Verordnung auf den Fertigpackungen angegebenen Mindesthaltbarkeitsfristen betrugen bis zu vier Tage (Tab. 14).

Tabelle 14: Mindesthaltbarkeitsdauer der 83 Konsummilchproben bei Entnahme entsprechend der Kennzeichnung

Anzahl der Tage	Anzahl der Proben
0	5
1	7
2	21
3	45
4	5

Die 94 untersuchten Proben Säuglings- und Kleinkindernahrung repräsentierten die Produktpalette von fünf deutschen Herstellern und wurden im Mindesthaltbarkeitszeitraum untersucht.

Unter den 76 Schnittkäseproben befanden sich 21, die aus Rohmilch hergestellt worden waren. Die Auskunft über die Art des Ausgangsmaterials (rohe bzw. wärmebehandelte Milch) konnte beim Erwerb der Produkte im Einzelhandel eingeholt werden. Die Käseproben, deren Alter nicht bekannt war, wurden spätestens fünf Tage nach dem Erwerb untersucht und bis dahin im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

Entsprechendes traf auch für die in die Untersuchungen einbezogenen 103 Weichkäseproben zu. Bei diesen Produkten handelte es sich um inländische (n = 62) und ausländische (n = 41) Erzeugnisse. Entsprechend der Herstellungsweise konnte zwischen Weichkäse mit Schimmelflora und Weichkäse mit Schmiere unterschieden werden.

Von für den Export nach Südeuropa bestimmten bayerischen Cagliata-Käsen wurden über das Bayerische Landesamt für Ernährungswirtschaft im Zeitraum von Januar bis März 1983 insgesamt 7 Proben zur Verfügung gestellt. Aus diesen Cagliata-Käsen wurden jeweils 5 Teilproben entnommen, um auch zu prüfen, ob erhebliche Differenzen zwischen den Ergebnissen der an verschiedenen Stellen gezogenen Teilproben bestehen.

3.2. Methodik

3.2.1 Vorbereitung der Proben

Die Vorbereitung der Proben erfolgte in Anlehnung an die entsprechenden, 1979 veröffentlichten Vorbereitungsnormen DIN 10191, Teil 1, Teil 2 bzw. Teil 4 (Vorbereitung der Proben; Verfahren für Milch und flüssige Milcherzeugnisse, Verfahren für Milchpulver, Molkepulver und Laktose bzw. Verfahren für Käse und Erzeugnisse aus Käse).

Bei Milch sowie Säuglings- und Kleinkindernahrung wurden 10 ml bzw. g des Probenmaterials in die neunfache Menge angewärmter, steriler 1/4 starker Ringer-Lösung übergeführt. Im Fall von Ca-

liata und Weichkäse wurden Böhrlinge, bei letzteren einschließlich Rinde, im Fall von Schnittkäsen mit einem Messer keilförmige Stücke unter sterilen Bedingungen entnommen und im Stomacher bzw. im Mixer zerkleinert. Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe in Zehnerstufen angelegt (bei Milch sowie Säuglings- und Kleinkindernahrung bis zur Verdünnungsstufe 10^{-2} , bei Schnittkäse bis 10^{-5} und bei Weich- und Cagliatakäse bis 10^{-7}). Da bei Säuglings- und Kleinkindernahrung eine subletale Schädigung der Keime zu erwarten war, wurde in Anlehnung an MOSSEL und RATTO (1979) zusätzlich eine Wiederbelebung durch zweistündiges Stehenlassen der Anschüttelung bei Zimmertemperatur durchgeführt und anschließend erneut eine Verdünnungsreihe hergestellt.

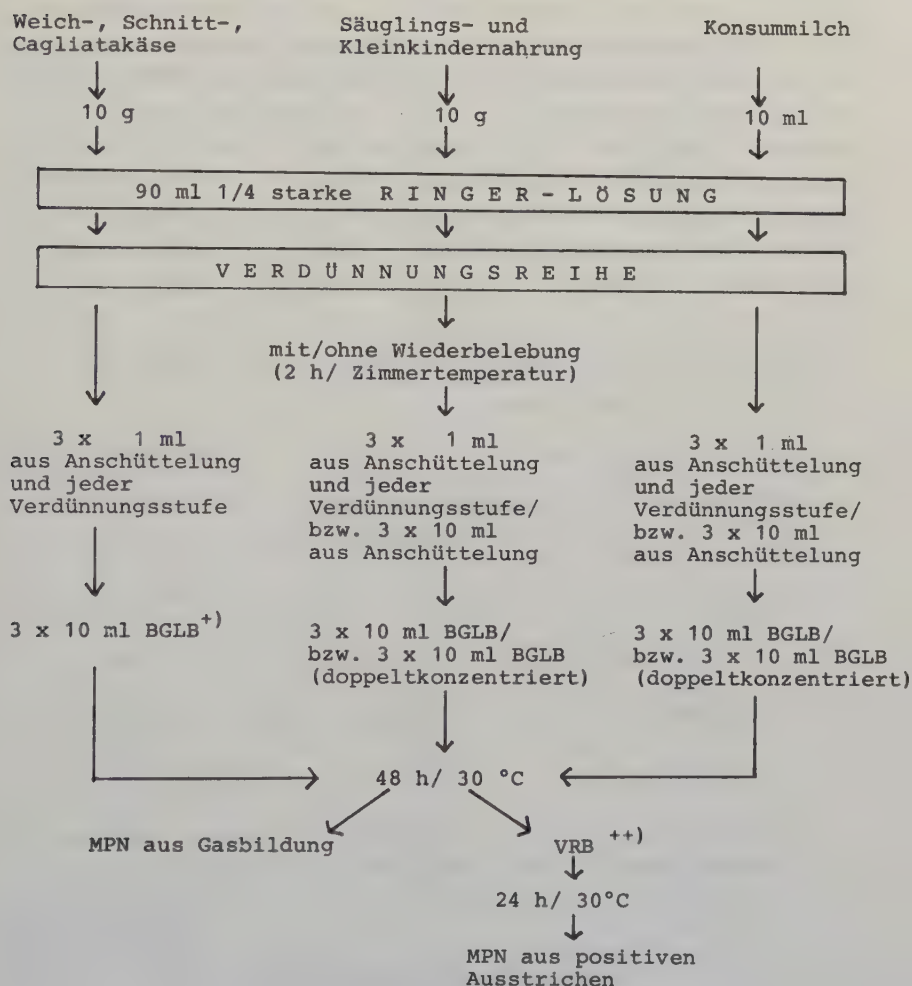
3.2.2 Nachweis von Coliformen

Der Nachweis der Coliformen erfolgte entsprechend DIN 10172, Teil 1 (Mikrobiologische Milchuntersuchung, Bestimmung der coliformen Keime, Referenzverfahren; Ausgabe: 1979).

Wie aus Abb. 1 hervorgeht, wurden aus Anschüttelung und jeder Verdünnungsstufe (vergl. 3.2.1) drei Kulturröhrchen, von denen jedes 10 ml Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon (BGLB) als Nährmedium sowie ein Durham-Röhrchen enthielt, parallel mit je einem Milliliter beimpft. Da bei Konsummilch sowie Säuglings- und Kleinkindernahrung geringere Mengen an coliformen Keimen zu erwarten waren, wurden, um auch ein Gramm bzw. einen Milliliter Material untersuchen zu können, 10 ml der Anschüttelung auf 10 ml doppelt-konzentrierte BGLB überimpft.

Nach einer Bebrütung von 48 h/ 30 °C erfolgte die Auswertung entsprechend DIN 10172 durch Bildung der Indexziffer aus der Anzahl der Kulturröhrchen mit positiver Reaktion (Gasansammlung im Durham-Röhrchen) und die Ermittlung der coliformen Keime je ml oder g mit Hilfe der MPN-(most probable number) Tabelle. Außerdem wurde aus jedem Kulturröhrchen Material auf Violet-Red-Bile-Agar (VRB) ausgestrichen (Vergleich zwischen Säure- und Gasbildung) und nach einer Bebrütung von 24 h/ 30 °C aus der Anzahl der auf VRB positiven Ausstriche ebenfalls die MPN kalkuliert.

Abbildung 1: Nachweis von Coliformen in Milch und Milchprodukten



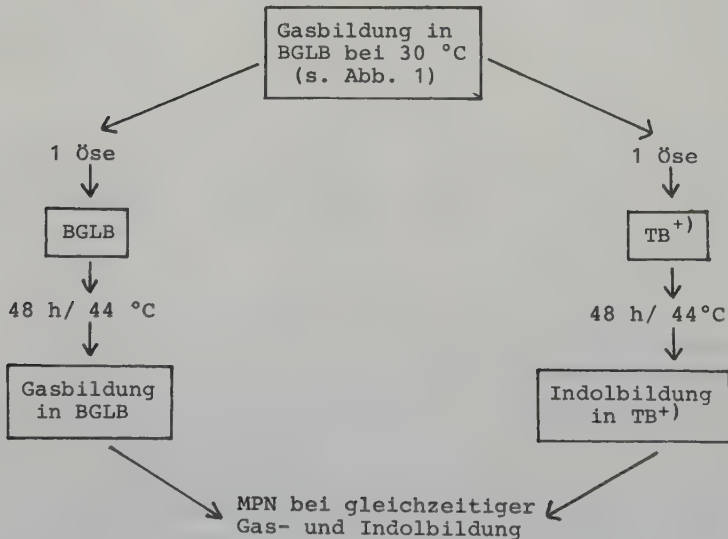
⁺⁾ BGLB: Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon

⁺⁺⁾ VRB : Violet-Red-Bile-Agar

3.2.3 Nachweis von "Fäkalcoliformen"

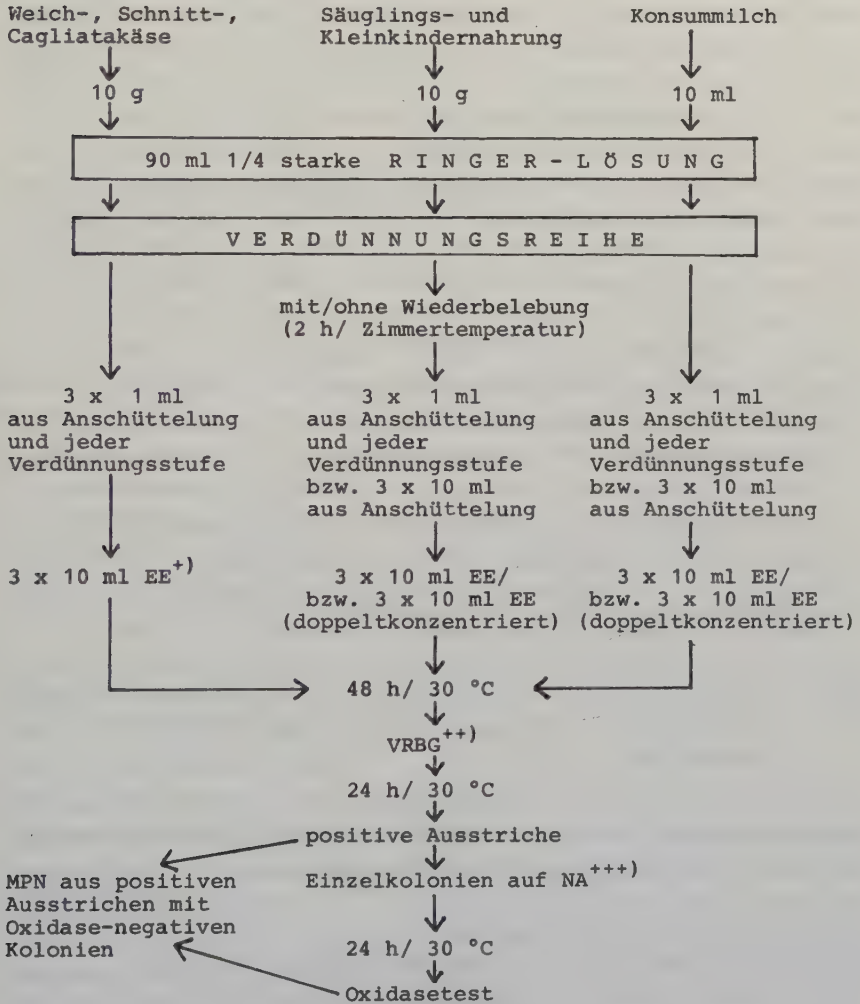
Aus Kulturröhrchen, in denen 48 h/ 30 °C Gasbildung aufgetreten war, wurde mit einer Öse Material sowohl in neue, BGLB und Durham-Röhrchen enthaltende Kulturröhrchen als auch in solche mit Trypton-Bouillon (TB, ca. 5 ml) überimpft und 48 h bei 44 °C im Wasserbad bebrütet. Der Indolnachweis erfolgte durch Überschichten der TB mit je 0,5 ml Kovacs-Indol-Reagenz. Aus der Anzahl der Kulturröhrchen, die Gasbildung in BGLB und gleichzeitig Indolbildung in TB zeigten, wurde, wie unter 3.2.2 geschildert, die Zahl an "Fäkalcoliformen" pro g oder ml ermittelt (siehe Abb. 2).

Abbildung 2: Nachweis von "Fäkalcoliformen" in Milch und Milchprodukten



+) TB : Trypton-Bouillon

Abbildung 3: Nachweis von Enterobacteriaceae in Milch und Milchprodukten



+) EE : Enterobacteriaceae-Enrichment-Broth

++) VRBG : Violet-Red-Bile-Glucose-Agar

+++) NA : Nutrient-Agar

3.2.4 Nachweis von Enterobacteriaceae

Der Nachweis von Enterobacteriaceae wurde in Anlehnung an die Vorschriften der Anlage 2 zur Verordnung über gesundheitliche Anforderungen an Eiprodukte und deren Kennzeichnung (Eiprodukte-Verordnung) vom 19. Februar 1975 durchgeführt (siehe Abb. 3). Aus der Anschüttelung und den Verdünnungsstufen wurden jeweils drei 10 ml Enterobacteriaceae-Enrichment-Broth (EE; MOSSEL et al., 1963) enthaltende Röhrchen mit je einem ml beschickt. Wie schon unter 3.2.2 beschrieben, wurde auch beim Nachweis von Enterobacteriaceae in Konsummilch sowie Säuglings- und Kleinkinder-nahrung durch Ansatz von 10 ml der Anschüttelung in doppelkonzentrierter EE ein g bzw. ml Probenmaterial mituntersucht. Die Selektivanreicherung wurde 48 h bei 30 °C (abweichend von der Eiprodukte-VO) bebrütet, bevor mit einer Öse Material auf Violet-Red-Bile-Glucose-Agar (VRBG) überimpft wurde. Nach 24 h/ 30 °C wurden typische Kolonien auf Nutrient-Agar (NA) übertragen, bei 30 °C 24 h inkubiert und anschließend dem Oxidasetest unterzogen, um das Vorliegen Oxidase-positiver Keime, die auf VRBG ähnliche Reaktionen wie Enterobacteriaceae zeigen, auszuschließen. Die Keimzahl an Enterobacteriaceae pro g oder ml wurde aus der Anzahl der auf VRBG typischen und Oxidase-negativen Ausstriche über die Bildung der Indexziffer im MPN-Verfahren (siehe 3.2.2) ermittelt.

3.2.5 Herkunft der für den Nachweis von Coliformen, "Fäkalcoliformen" und Enterobacteriaceae verwendeten Nährböden und Reagenzien

Die Nährböden und die Verdünnungsflüssigkeit wurden mit Ausnahme der Trypton-Bouillon als Trockenmedien von der Fa. Oxoid bezogen. Die Bestellnummern sind der folgenden Aufstellung zu entnehmen:

Ringer-Lösung (Oxoid BR 52)
Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon (Oxoid CM 31)
Enterobacteriaceae-Enrichment-Broth (Oxoid CM 317)
Violet-Red-Bile-Agar (Oxoid CM 107)
Violet-Red-Bile-Glucose-Agar (Oxoid CM 485)
Nutrient-Agar (Oxoid CM 3)

Das Kovacs-Indol-Reagenz stammte von der Fa. Merck (9293).
Trypton-Bouillon und Oxydasereagenz wurden selbst hergestellt:

Zusammensetzung der Trypton-Bouillon

Trypton	10,0 g	(Oxoid L 42)
NaCl	5,0 g	(Merck 6404)
Aqua dest.	1000 ml	
pH	7,3	

Zusammensetzung des Oxydasereagenz

nach GABY und HADLEY (Anlage 2 zur Eiprodukte-VO)

- a) 1 %-ige wäßrige Lösung von N,N-Dimethyl-p-phenylen-
diamindihydrochlorid (Sigma D/4139)
- b) 1 %-ige alkoholische α -Naphthollösung (Merck 6223)

Die Lösungen a) und b) werden im Verhältnis 2:3 gemischt und
in Mengen zu je 1 ml tiefgefroren aufbewahrt.

3.3 Ergebnisse

Die untere Nachweisgrenze lag in Abhängigkeit von der Art des
untersuchten Probenmaterials bei einer wahrscheinlichsten Keim-
zahl von 0,3/ml bzw. g (pasteurisierte Konsummilch bzw. Säuglings-
und Kleinkindernahrung auf Trockenmilchbasis) oder 3/g (Schnitt-,
Weich- und Cagliata-Käse), die obere Nachweisgrenze bei einer sol-
chen von 110/ml bzw. g (pasteurisierte Konsummilch bzw. Säuglings-
und Kleinkindernahrung), 110×10^3 /g (Schnittkäse) bzw. 110×10^5 /g
(Weich- und Cagliata-Käse).

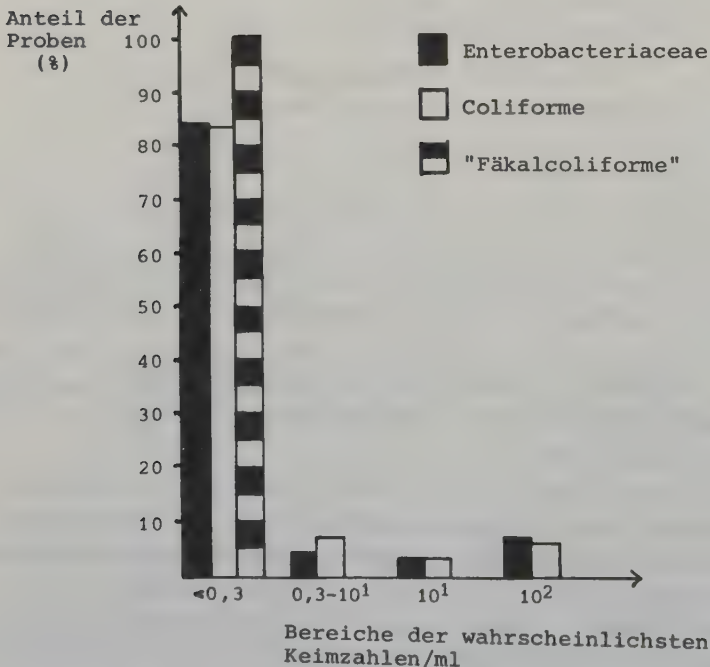
Alle Berechnungen wurden unter Verwendung eines Taschenrechners
durchgeführt. Zur Feststellung signifikanter Unterschiede zwischen
den Mittelwerten wurde der einfache t-Test herangezogen. Die Er-
mittlung des Wahrscheinlichkeitsgrades, mit dem Unterschiede sta-
tistisch gesichert sind, erfolgte unter Zuhilfenahme der wissen-
schaftlichen Tabellen - Documenta Geigy -.

Von einer zusätzlichen Verwendung des t-Tests für paarige Stich-
proben mußte abgesehen werden, da sich beim Vergleich einer er-
heblichen Zahl von Einzelwerten keine oder negative Differenzen
ergaben.

3.3.1 Pasteurisierte Konsummilch

In 69 (83,1 %) bzw. 70 (84,3 %) der im Zeitraum von Ende März bis Mitte Mai 1983 untersuchten Proben pasteurisierter Konsummilch wurden mit der MPN-Technik bei einer Nachweisgrenze von 0,3 Keimen/ml keine Coliformen (BGLB und VRB) bzw. Enterobacteriaceae (EE und VRBG) nachgewiesen (Abb. 4). Der Anteil der Proben mit

Abbildung 4: Häufigkeitsverteilung der wahrscheinlichsten Keimzahlen von Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in 83 Proben pasteurisierter Konsummilch



wahrscheinlichsten Keimzahlen von mindestens 10^1 /ml belief sich für Coliforme bzw. Enterobacteriaceae auf insgesamt acht (9,6 %) bzw. neun (10,8 %); für fünf (6 %) bzw. sechs (7,2 %)

dieser Proben ergab sich ein Keimzahlbereich für Coliforme bzw. Enterobacteriaceae von 10^2 /ml.

Bei insgesamt 75 Proben (90,4 %) wurden für Coliforme und Enterobacteriaceae exakt die gleichen Ergebnisse erzielt, bei den anderen Proben bestanden mit einer Ausnahme (Coliforme: $<0,3$ /ml - Enterobacteriaceae: 25/ml) keine signifikanten Unterschiede zwischen den wahrscheinlichsten Keimzahlen (Tab. 15).

Tabelle 15: Unterschiede in den wahrscheinlichsten Keimzahlen an Coliformen und Enterobacteriaceae in 8 Konsummilchproben

Coliforme/ml		Enterobacteriaceae/ml	
MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾	MPN	95 % -ige Vertrauensgrenze ⁺⁾
45	7,1 - 240	110	15 - 480
1,5	0,3 - 4,4	$<0,3$	-
1,5	0,3 - 4,4	2,5	0,4 - 12
0,4	$<0,05$ - 2	0,9	0,1 - 3,6
$<0,3$	-	1,5	0,3 - 4,4
0,4	$<0,05$ - 2	$<0,3$	-
0,4	$<0,05$ - 2	$<0,3$	-
$<0,3$	-	25	3,6 - 130

⁺⁾ nach HOSKINS (1933)

Zwischen den für BGLB (Gasbildung) und VRB (Säurebildung) ermittelten wahrscheinlichsten Coliformen-Zahlen bestanden bei keiner der 83 Proben Unterschiede.

Bei der parallel zur MPN-Auswertung durchgeführten Bestimmung des Coliformtiters ergab sich, daß 72 Proben (86,8 %) in 1 ml als negativ und insgesamt 8 Proben (9,6 %) bei der Untersuchung von 0,1 ml als positiv zu beurteilen waren (Tab. 16).

Tabelle 16: Ergebnisse der Coliformtiterbestimmung bei 83 Proben pasteurisierter Konsummilch

Coliformtiter	Anzahl (Anteil) der Proben
1 ml neg.	72 (86,8 %)
1 ml pos.	3 (3,6 %)
0,1 ml pos.	3 (3,6 %)
0,01 ml pos.	5 (6,0 %)

Eine gesicherte Beziehung zwischen Mindesthaltbarkeitsdauer der Milchproben gemäß § 2 der Konsummilch-Kennzeichnungs-Verordnung und den Coliformen- bzw. Enterobacteriaceae-Gehalten war nicht festzustellen. Zwar nahm der Anteil der Proben ohne Coliforme bzw. Enterobacteriaceae, der bei einer deklarierten Mindesthaltbarkeitsdauer von vier Tagen 100 % betrug, bis zu den Proben mit einer Mindesthaltbarkeitsfrist von nur einem Tag (71,4 %) deutlich ab (Tab. 17 bzw. 18), doch waren wiederum alle Proben, deren Mindesthaltbarkeitsdatum dem Untersuchungsdatum gleichzusetzen war, frei von den erwähnten Keimen ($<0,3/\text{ml}$). Die letzteren Proben stammten jedoch ebenso wie die Proben mit einer deklarierten Mindesthaltbarkeitsdauer von vier Tagen aus dem gleichen Milchbearbeitungsbetrieb, bei dem insgesamt überhaupt nur in einer von 29 geprüften Proben Coliforme und Enterobacteriaceae gefunden wurden. Es fällt in diesem Zusammenhang auf, daß in vier Betrieben wieder-

Tabelle 17: Häufigkeitsverteilung der wahrscheinlichsten Keimzahl von Enterobacteriaceae in pasteurisierter Konsummilch in Abhängigkeit von der deklarierten Mindesthaltbarkeitsdauer (in Tagen)

Mindesthaltbarkeitsdauer in Tagen (Zahl der Proben)	Enterobacteriaceae/ml		
	<0,3	0,3 bis 10	≥10
4 (5)	100 %		
3 (45)	88,9 %	4,4 %	6,7 %
2 (21)	81 %		19 %
1 (7)	71,4 %		28,6 %
0 (5)	100 %		

Tabelle 18: Häufigkeitsverteilung der wahrscheinlichsten Keimzahlen von Coliformen in pasteurisierter Konsummilch in Abhängigkeit von der deklarierten Mindesthaltbarkeitsdauer (in Tagen)

Mindesthaltbarkeitsdauer in Tagen (Zahl der Proben)	Coliforme/ml		
	<0,3	0,3 bis 10	≥10
4 (5)	100 %		
3 (45)	88,9 %	8,9 %	2,2 %
2 (21)	66,7 %	9,5 %	23,8 %
1 (7)	71,4 %		28,6 %
0 (5)	100 %		

holt positive Befunde zu registrieren waren, in den restlichen vier Betrieben der Nachweis von Coliformen bzw. Enterobacteriaceae aber die Ausnahme war. Zusammenhänge zwischen Fettgehalt der Proben und den erwähnten mikrobiologischen Kriterien waren nicht zu beobachten.

"Fäkalcoliforme" (s. 3.2.3) konnten in keiner der 83 untersuchten Proben pasteurisierter Konsummilch nachgewiesen werden ($\leq 0,3/\text{ml}$).

3.3.2 Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Trockenmilchbasis

Bei der - ohne vorherigen Wiederbelebungsschritt - durchgeführten Untersuchung von insgesamt 94 Produkten konnten in 77 (81,9 %) bzw. in 63 (67,0 %) keine Coliformen bzw. Enterobacteriaceae (MPN: $\leq 0,3/\text{g}$) nachgewiesen werden (Tab. 19). In sieben Proben wurden wahrscheinlichste Coliformen-Zahlen von mindestens 1/g ermittelt, in einer davon über 100/g. Dagegen waren Enterobacteriaceae-Gehalte von mindestens 1/g in 13 Proben zu registrieren; in zwei Proben davon waren mindestens 10 und in einer Probe mehr als 100 Enterobacteriaceae/g vorhanden (Tab. 19).

Tabelle 19: Gehalte an Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in 94 Säuglings- und Kleinkindernahrungen -
Nachweis ohne (mit) Wiederbelebung

MPN/g (Bereiche)	Prozentualer Anteil der Proben ohne (mit) Wiederbelebung		
	Enterobacteriaceae	Coliforme	"Fäkalcoliforme"
$\leq 0,3$	67,0 (52,1)	81,9 (74,5)	98,9 (97,9)
0,3 - 0,9	19,2 (18,1)	10,6 (14,9)	- -
10^0	10,6 (21,3)	6,4 (7,4)	- -
10^1	2,1 (5,3)	- (1,1)	- -
10^2	1,1 (3,2)	1,1 (2,1)	1,1 (2,1)

Eine Gegenüberstellung der zumindest bei einem dieser beiden Parameter positiven Proben ließ erkennen, daß einerseits in drei Proben mit Coliformen (MPN: 0,4 bis 0,9/g) keine Enterobacteriaceae nachgewiesen werden konnten und andererseits in 17 Proben mit Enterobacteriaceae keine Coliformen gefunden wurden; auch hier lagen die MPN allerdings überwiegend (14 Proben) unter 1/g, bei den restlichen drei Proben betrugen sie 2 (zwei Proben) bzw. 20/g. Bei den bei beiden Nachweisen positiven 14 Proben ergaben sich für acht gleiche Keimzahlen, während bei den restlichen Proben die MPN für Enterobacteriaceae nur unwesentlich höher waren und sich nicht signifikant von den MPN für Coliforme unterschieden.

Die parallel durchgeführte Bestimmung des Coliformtiters erbrachte, daß 83 Proben (88,3 %) in 1 g als negativ und eine Probe (1,1 %) noch bei der Untersuchung von 0,01 g als positiv zu beurteilen gewesen wäre (Tab. 20).

Tabelle 20: Ergebnisse der Colifortiterbestimmung bei 94 Proben von Säuglings- und Kleinkindernahrungen

Coliformtiter	Anzahl (Anteil) der Proben
1,0 g neg.	83 (88,3 %)
1,0 g pos.	8 (8,5 %)
0,1 g pos.	2 (2,1 %)
0,01 g pos.	1 (1,1 %)

Bei Durchführung der von MOSSEL und RATTO (1970) für derartige Produkte empfohlenen zweistündigen Wiederbelebung nahm die Anzahl der positiven Proben sowohl bei den Coliformen (24 gegenüber 17) als auch bei den Enterobacteriaceae (45 gegenüber 31) zu (s.a. Tab. 19). Dabei stieg bei den Enterobacteriaceae insbesondere der Anteil der Proben mit wahrscheinlichsten Zahlen von 1,1 bis 9,5/g, bei den Coliformen jener mit Zahlen von 0,3 bis 0,9/g. Aus den Abbildungen 5 und 6 ist zu ersehen, daß die MPN für Coliforme bzw.

Tabelle 21: Unterschiede in den wahrscheinlichsten Keimzahlen an Coliformen und Enterobacteriaceae in 22 Proben von Säuglings- und Kleinkindernahrung - Nachweis mit Wiederbelebung

Coliforme/g				Enterobacteriaceae/g			
MPN	95 % -ige Vertrauensgrenze ⁺⁾			MPN	95 % -ige Vertrauensgrenze ⁺⁾		
0,4	< 0,05	-	2	0,9	0,1	-	3,6
0,4	< 0,05	-	2	0,7	0,1	-	2,3
2,5	0,4	-	12	4,5	0,7	-	21
0,4	< 0,05	-	2	0,4	< 0,05	-	2
15,0	3	-	44	25,0	3,6	-	130
0,7	0,1	-	2,3	25,0	3,6	-	130
0,4	< 0,05	-	2	0,4	< 0,05	-	2
0,9	0,1	-	3,6	15,0	3	-	44
0,9	0,1	-	3,6	3,5	0,7	-	16 ⁺⁺⁾
0,9	0,1	-	3,6	2,0	0,7	-	8,9
0,4	< 0,05	-	2	0,4	< 0,05	-	2
0,9	0,1	-	3,6	4,5	0,7	-	21
4,5	0,7	-	21	9,5	1,5	-	38
0,4	< 0,05	-	2	3,0	1,0	-	15
0,4	< 0,05	-	2	0,4	< 0,05	-	2
110	15	-	480	110	15	-	480
2,5	0,4	-	12	25,0	3,6	-	130
2,5	0,4	-	12	2,5	0,4	-	12
4,5	0,7	-	21	4,5	0,7	-	21
2,5	0,4	-	12	4,5	0,7	-	21
0,9	0,1	-	3,6	0,9	0,1	-	3,6
110	15	-	480	110	15	-	480

⁺⁾ nach HOSKINS (1933)

⁺⁺⁾ nach COCHRAN (1950)

Enterobacteriaceae vor und nach Wiederbelebung in 93,6 % bzw. 76,6 % der Proben um höchstens einen halben dekadischen Logarithmus voneinander abwichen. Ein Unterschied von mehr als einem dekadischen Logarithmus war nur bei einer (1,1 %) Probe - Coliforme - bzw. bei zehn (10,6 %) Proben - Enterobacteriaceae - gegeben. Auffällig war, daß bei zwei Proben der Enterobacteriaceae-Gehalt ohne Wiederbelebung um mehr als einen halben dekadischen Logarithmus höher war als nach Wiederbelebung (Abb. 6). In diesem Zusammenhang ist auch von Interesse, daß bei drei Proben Enterobacteriaceae nur bei Verzicht auf die Wiederbelebung (0,4 - 1,5/g) gefunden wurden, bezüglich der Coliformen traf dies für eine Probe (0,4/g) zu.

Von den 22 Enterobacteriaceae und Coliforme enthaltenden Proben fielen 15 (68,2 %) in den gleichen Keimgehaltsbereich, während bei den restlichen Proben der Enterobacteriaceae-Gehalt z.T. deutlich höher war (Tab. 21). Bei zwei Proben, bei denen Coliforme (MPN: 0,9 bzw. 1,5/g) registriert worden waren, wurden keine Enterobacteriaceae gefunden, umgekehrt waren in 23 Proben mit Enterobacteriaceae (MPN: 0,4 - 110/g) keine Coliformen ermittelt worden.

Der Nachweis von Coliformen in BGLB und die Bestätigung auf VRB-Agar erbrachte - sowohl ohne als auch mit Wiederbelebung - völlig übereinstimmende Ergebnisse.

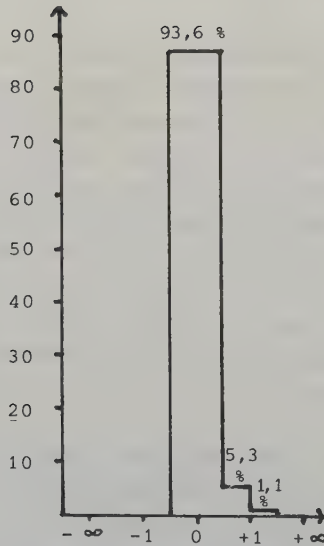
"Fäkalcoliforme" wurden ohne Wiederbelebung nur in einer, nach Wiederbelebung zusätzlich in einer weiteren, zuvor negativen Probe nachgewiesen, und zwar jeweils in Zahlen von über 100/g (Tab. 19). Beide Proben enthielten nach Wiederbelebung auch über 100 Enterobacteriaceae/g, wobei diese hohe Keimzahl bei der zweiten Probe ebenfalls erst nach Wiederbelebung beobachtet wurde.

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß in Produkten aus einem Herstellungsbetrieb wiederholt Coliforme und Enterobacteriaceae gefunden wurden, bei den restlichen vier Betrieben der Nachweis von Coliformen, aus drei Betrieben davon auch der Enterobacteriaceae-Nachweis, die Ausnahme war. Ein Zusammenhang zwischen der Zu-

sammensetzung der jeweiligen Produkte und dem Keimgehalt konnte nicht registriert werden.

Abbildung 5: Häufigkeitsverteilung der dekadischen Logarithmen von Coliformen-Zahlen mit und ohne Wiederbelebung in 94 Proben von Säuglings- und Kleinkindernahrung

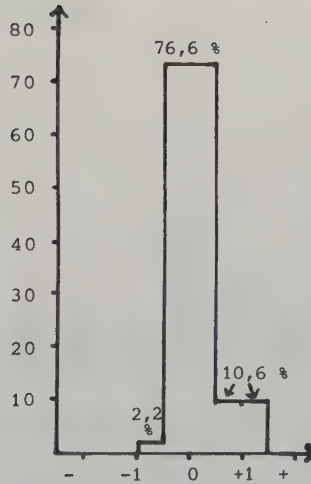
Anzahl der
Proben



$$\log_{10} \left(\frac{\text{MPN-Coliforme mit Wiederbelebung}}{\text{MPN-Coliforme ohne Wiederbelebung}} \right)$$

Abbildung 6: Häufigkeitsverteilung der dekadischen Logarithmen von Enterobacteriaceae-Zahlen mit und ohne Wiederbelebung in 94 Proben von Säuglings- und Kleinkindernahrung

Anzahl der
Proben

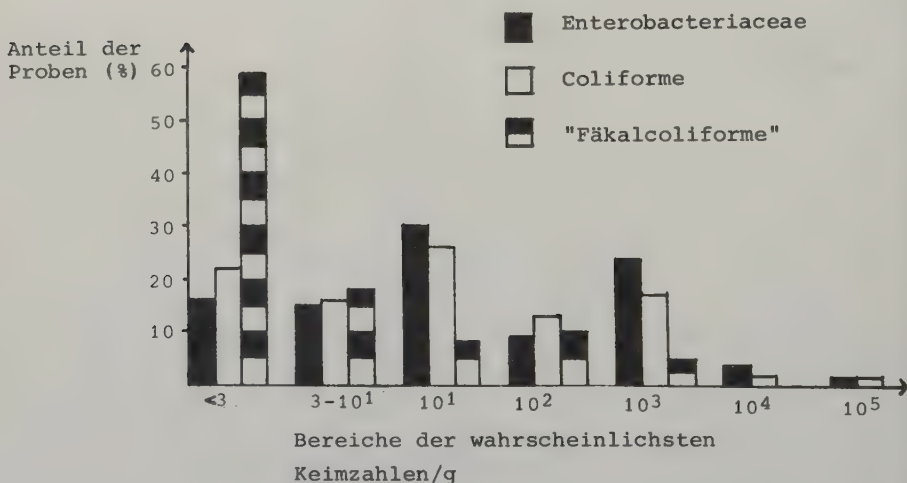


$$\log_{10} \left(\frac{\text{MPN-Enterobacteriaceae mit Wiederbelebung}}{\text{MPN-Enterobacteriaceae ohne Wiederbelebung}} \right)$$

3.3.3 Schnittkäse

Bei der Untersuchung der 76 Schnittkäse-Proben ließen sich Coli-forme (BGLB) in 59 (77,6 %) Proben und Enterobacteriaceae in 64 (84,2 %) Proben (Abb. 7; Tab. 22) nachweisen ($\geq 3/g$).

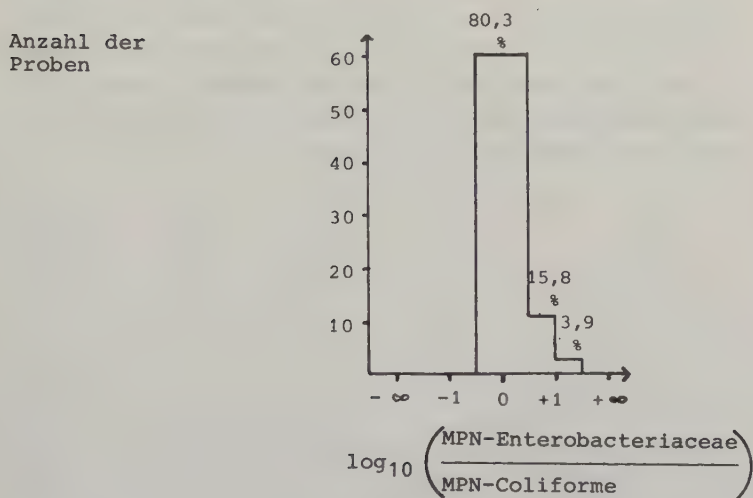
Abbildung 7: Häufigkeitsverteilung der wahrscheinlichsten Keimzahlen von Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in 76 Schnittkäse-Proben



Der Anteil der Proben mit mindestens 10³ Coliformen bzw. Enterobacteriaceae/g belief sich auf 17 (22,3 %) bzw. 23 (30,2 %); in jeweils zwei dieser Proben waren 10⁵ Keime/g vorhanden.

Bei der Berechnung der geometrischen Mittel ergaben sich folgende wahrscheinlichsten Werte: 49,5 Coliforme/g und 80,8 Enterobacteriaceae/g; die Mittelwerte unterschieden sich nicht signifikant. Ein Vergleich der Einzelergebnisse für beide Parameter zeigte, daß die Enterobacteriaceae-Gehalte mit einer Ausnahme (25 Enterobacteriaceae/g und 95 Coliforme/g) den Coliformen-Gehalten zumindest entsprachen und sie bei drei Proben (3,9 %) sogar um mehr als einen dekadischen Logarithmus übertrafen (Abb. 8).

Abbildung 8: Häufigkeitsverteilung der dekadischen Logarithmen von Enterobacteriaceae- und Coliformen-Zahlen in 76 Schnittkäse-Proben



Sowohl in BGLB als auch auf VRB-Agar wurden für Coliforme in allen Proben identische wahrscheinlichste Keimzahlen ermittelt.

"Fäkalcoliforme" konnten in 31 (40,8 %) der Proben nachgewiesen ($\geq 3/g$) werden. Davon enthielten 12 (15,8 %) mindestens 100 Keime/g, vier (5,3 %) Proben lagen im Keimgehaltsbereich von $10^3/g$ (Abb. 7; Tab. 15).

Bei Berücksichtigung der Art des Ausgangsmaterials (rohe bzw. wärmebehandelte Milch, laut Auskunft des Einzelhändlers) zeigte sich, daß in 18,2 % bzw. 23,6 % der 55 Schnittkäse-Proben aus wärmebehandelter Milch keine Enterobacteriaceae bzw. Coliforme vorhanden waren, diese Prozentsätze bei den 21 Proben aus Rohmilch mit 9,5 % bzw. 19 % etwas niedriger lagen (Tab. 22). Der Anteil von Proben aus wärmebehandelter Milch mit wahrscheinlichsten Keimzahlen von mindestens $10^3/g$ belief sich für Enterobacteriaceae bzw. Coliforme auf insgesamt 32,8 % bzw. 21,8 %, derjenige von Schnitt-

käse aus Rohmilch auf jeweils 23,8 %. Dabei konnten nur in Produkten aus Rohmilch 10^5 Keime/g registriert werden (Tab. 22). Auch "Fäkalcoliforme" kamen in den aus wärmebehandelter Milch hergestellten Schnittkäsen etwas seltener vor (40,0 % gegenüber 42,9 %). Allerdings belief sich der Anteil von Proben aus wärmebehandelter Milch mit wahrscheinlichsten Keimzahlen von mindestens 10^2 /g auf 16,4 %, derjenige von Proben aus Rohmilch aber nur auf 14,3 %. "Fäkalcoliformen"-Keimgehalte von 10^3 /g wurden allein in Produkten aus wärmebehandelter Milch gefunden (Tab. 22).

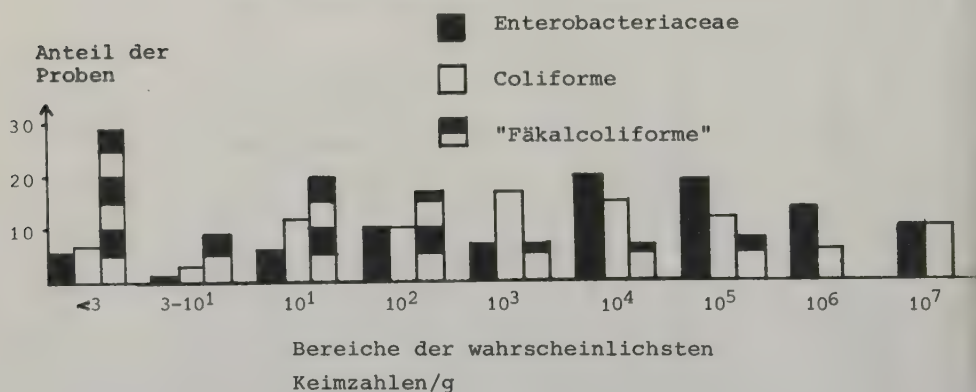
Tabelle 22: Vergleich der Gehalte an Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in Schnittkäse aus wärmebehandelter Milch (w) und Rohmilch (r)

Kerngehalt pro g	Anteil (%) der Proben mit							
	Enterobacteriaceae				Coliformen			
	w (n=55)	r (n=21)	total (n=76)		w (n=55)	r (n=21)	total (n=76)	
								"Fäkalcoliformen" w (n=55)
								r (n=21)
								total (n=76)
< 3	18,2	9,5	15,8		23,7	19,1	22,4	60,0
3 - 9,9	14,5	14,3	14,5		18,2	9,5	15,8	14,5
10 ¹	27,3	38,1	30,3		21,8	38,1	26,3	9,1
10 ²	7,3	14,3	9,2		14,5	9,5	13,2	9,1
10 ³	27,3	14,3	23,7		18,2	14,3	17,1	7,3
10 ⁴	5,4	-	3,9		3,6	-	2,6	-
10 ⁵	-	9,5	2,6		-	9,5	2,6	-

3.3.4 Weichkäse

Bei der Untersuchung der 103 Weichkäse-Proben konnten Coliforme (BGLB) in 95 (92,2 %) Proben und Enterobacteriaceae in 96 (93,2 %) Proben nachgewiesen (≥ 3 /g) werden (s.a. Abb. 9). In 32 (31,1 %) bzw. 47 (45,6 %) Proben wurden für Coliforme bzw. für Enterobac-

Abbildung 9: Häufigkeitsverteilung der wahrscheinlichsten Keimzahlen von Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in 103 Weichkäseproben



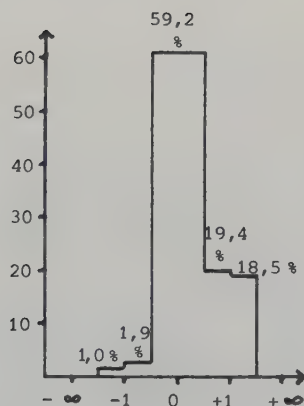
teriaceae wahrscheinlichste Keimzahlen von mindestens 10^5 /g registriert; der Anteil der Proben mit 10^7 Keimen/g belief sich jeweils auf 11 (10,7 %). Im Durchschnitt (geometrisches Mittel der MPN) enthielten die untersuchten Weichkäseproben $7,5 \times 10^3$ Coliforme/g bzw. $2,8 \times 10^4$ Enterobacteriaceae/g. Im anschließend durchgeführten t-Test zeigte sich, daß sich die Mittelwerte signifikant unterschieden ($p < 0,05$).

Die Gegenüberstellung der Einzelergebnisse für beide Parameter erbrachte bei neun Proben (8,7 %) einen niedrigeren Enterobacteriaceae-Gehalt (Tab. 23). Bei 60 Proben (58,3 %) lagen umgekehrte Verhältnisse vor. Während aber nur eine Probe (1 %) eine um mehr als einen dekadischen Logarithmus höhere Coliformen-Zahl aufwies, waren bei 19 Proben (18,5 %) die Enterobacteriaceae-Gehalte um mindestens einen dekadischen Logarithmus höher (Abb. 10).

Bei insgesamt 97 Proben (94,2 %) wurden für Coliforme in BGLB (Gasbildung) und auf VRB (Säurebildung) exakt die gleichen wahrscheinlichsten Keimzahlen ermittelt, bei den restlichen sechs Proben bestanden keine signifikanten Unterschiede (Tab. 24). In fünf dieser Proben lag die wahrscheinlichste Zahl der säurebildenden Coliformen über jener der gasbildenden Coliformen.

Abbildung 10: Häufigkeitsverteilung der dekadischen Logarithmen von Enterobacteriaceae- und Coliformen-Zahlen in 103 Weichkäseproben

Anzahl der
Proben



$$\log_{10} \left(\frac{\text{MPN-Enterobacteriaceae}}{\text{MPN-Coliforme}} \right)$$

Tabelle 23: Unterschiede in den wahrscheinlichsten Keimzahlen an Coliformen und Enterobacteriaceae in neun Weichkäseproben mit niedrigerem Enterobacteriaceae-Gehalt

Coliforme/g		Enterobacteriaceae/g	
MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾	MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾
$0,4 \times 10^1$	$< 0,05 \times 10^1 - 2,0 \times 10^1$	$< 0,3 \times 10^1$	-
$2,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2 - 4,7 \times 10^3$	$9,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^1 - 3,8 \times 10^2$
$4,5 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2 - 2,1 \times 10^4$	$2,5 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2 - 1,2 \times 10^4$
$1,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^6 - 4,8 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5 - 1,3 \times 10^7$
$2,5 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5 - 1,3 \times 10^7$	$9,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 3,8 \times 10^6$
$4,5 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4 - 2,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4 - 1,2 \times 10^6$
$4,5 \times 10^6$	$7,1 \times 10^5 - 2,4 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5 - 1,3 \times 10^7$
$2,5 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2 - 1,2 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2 - 4,7 \times 10^3$
$4,5 \times 10^6$	$7,1 \times 10^5 - 2,4 \times 10^7$	$9,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 3,8 \times 10^6$

⁺⁾ nach HOSKINS (1933)

Tabelle 24: Unterschiede in den wahrscheinlichsten Keimzahlen an gasbildenden (BGLB) und säurebildenden (VRB) Coliformen bei sechs Weichkäseproben

Gasbildende Coliforme (BGLB)		säurebildende Coliforme (VRB)	
MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾	MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾
$4,5 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2 - 2,1 \times 10^4$	$9,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3 - 3,8 \times 10^4$
$1,1 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4 - 3,6 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4 - 1,2 \times 10^6$
$4,5 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4 - 2,1 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 3,8 \times 10^6$
$0,7 \times 10^1$	$0,1 \times 10^1 - 2,3 \times 10^1$	$0,4 \times 10^1$	$< 0,05 \times 10^1 - 2,0 \times 10^1$
$2,5 \times 10^1$	$0,4 \times 10^1 - 1,2 \times 10^2$	$4,5 \times 10^1$	$0,7 \times 10^1 - 2,1 \times 10^2$
$0,4 \times 10^1$	$< 0,05 \times 10^1 - 2,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^1$	$0,4 \times 10^1 - 4,7 \times 10^1$

⁺⁾ nach HOSKINS (1933)

"Fäkalcoliforme" ließen sich in 72 (69,9 %) der 103 Weichkäseproben nachweisen (MPN: ≥ 3 /g). Der Anteil von Proben mit weniger als 100 "Fäkalcoliformen" /g belief sich auf 62 (60,2 %), während 23 (22,3 %) mindestens 10^3 "Fäkalcoliforme" /g aufwiesen; sieben dieser Proben enthielten 10^5 Keime/g (Abb. 9). Im Durchschnitt waren in den Weichkäsen $8,7 \times 10^1$ "Fäkalcoliforme" /g (geometrisches Mittel der MPN) vorhanden.

Zwischen Weichkäse mit Schmiere (41 Proben) bzw. mit Schimmel (62 Proben) als Oberflächenflora konnten im Coliformen- und insbesondere in Enterobacteriaceae-Gehalt Unterschiede festgestellt werden (Tab. 25).

Tabelle 25: Vergleich der Gehalte an Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in 41 Weichkäseproben mit Schmiere- (Schm) und 62 mit Schimmelflora (Schi)

Keimgehalt pro g	prozentualer Anteil der Proben mit					
	Enterobacteriaceae		Coliformen		"Fäkalcoliformen"	
	Schm	Schi	Schm	Schi	Schm	Schi
≤ 3	2,4	9,7	2,4	11,3	24,4	33,8
3 - 9,9	-	3,2	-	6,4	9,8	9,7
10^1	-	11,3	12,2	16,1	24,4	17,7
10^2	4,9	14,5	14,6	8,1	26,8	11,3
10^3	7,3	8,1	19,5	12,9	4,9	9,7
10^4	31,7	12,9	22,0	12,9	7,3	8,1
10^5	26,8	17,7	19,5	9,7	2,4	9,7
10^6	22,0	9,7	4,9	8,1	-	-
10^7	4,9	12,9	4,9	14,5	-	-
$\bar{x}_g$	$1,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$5,2 \times 10^3$	$7,1 \times 10^1$	$9,9 \times 10^1$

So waren einerseits Proben mit weniger als 100 Enterobacteriaceae (Coliformen) /g bei den Produkten mit Schmiere seltener, während andererseits bei Keimzahlen von mindestens 10^4 /g sich das entgegengesetzte Bild ergab. Infolgedessen waren die durchschnittlichen Coliformen- bzw. Enterobacteriaceae-Gehalte (geometrische Mittel der MPN) in den Produkten mit Schmiere höher als jene in Weichkäse mit Schimmel (Tab. 18). Die Differenzen zwischen den Mittelwerten ($1,2 \times 10^5$ /g und $1,1 \times 10^4$ /g bei den Enterobacteriaceae - $1,3 \times 10^4$ /g und $5,2 \times 10^3$ /g bei den Coliformen) ließen sich für die Enterobacteriaceae statistisch sichern ($p < 0,01$), nicht aber für die Coliformen. Bei den "Fäkalcoliformen" waren die Mittelwerte der MPN bei Weichkäse mit Schmiere bzw. mit Schimmel annähernd gleich ($7,1 \times 10^1$ /g bzw. $9,9 \times 10^1$ /g).

Der Vergleich der Produktionsstätten (Inland - Ausland) erbrachte die in Tab. 26 wiedergegebenen Resultate. Dabei zeigte sich, daß über 80 % der 62 deutschen Produkte mindestens 10^4 Enterobacteriaceae/g enthielten, bei den ausländischen Erzeugnissen ($n = 41$) der Anteil dieser Proben aber nur etwa 40 % betrug. Ähnliches traf auch für Coliforme (ca. 60 % inländische und ca. 30 % ausländische Produkte mit mindestens 10^4 Keimen/g) und "Fäkalcoliforme" (ca. 50 % der inländischen, aber nur ca. 25 % der ausländischen Produkte wiesen mindestens 10^2 Keime/g auf) zu. Infolgedessen waren auch die geometrischen Mittelwerte der MPN für alle drei Parameter bei den in Deutschland hergestellten Erzeugnissen deutlich höher (Tab. 26). Die Unterschiede ließen sich statistisch absichern und zwar mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,001$ (Coliforme, Enterobacteriaceae) bzw. $p < 0,05$ ("Fäkalcoliforme"). In inländischem Weichkäse erwies sich auch die mittlere Differenz zwischen dem durchschnittlichen Enterobacteriaceae- bzw. Coliformen-Gehalt als signifikant ($p < 0,05$).

Tabelle 26: Vergleich der Gehalte an Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" in 62 inländischen (i) und 41 ausländischen (a) Weichkäseproben

Keimgehalt pro g	prozentualer Anteil der Proben mit					
	Enterobacteriaceae		Coliformen		"Fäkalcoliformen"	
	i	a	i	a	i	a
< 3	1,6	14,6	1,6	14,6	19,3	46,3
3 - 9,9	-	4,9	-	14,6	9,7	9,8
10 ¹	1,6	14,6	4,8	19,5	21,0	19,5
10 ²	8,0	14,6	9,7	12,2	24,2	7,3
10 ³	4,8	12,2	24,2	9,8	11,3	2,5
10 ⁴	32,3	2,5	21,0	7,3	8,0	7,3
10 ⁵	21,0	19,5	19,3	7,3	6,5	7,3
10 ⁶	21,0	4,9	9,7	2,5	-	-
10 ⁷	9,7	12,2	9,7	12,2	-	-
$\bar{x}_g$	$1,4 \times 10^5$	$2,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^4$	$7,3 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$3,2 \times 10^1$

3.3.5 Bayerischer Cagliata

Von den für den Export nach Südeuropa bestimmten Cagliata-Käsen wurden vom Bayerischen Landesamt für Ernährungswirtschaft insgesamt sieben Proben zur Verfügung gestellt. Aus diesen sieben Cagliata-Käsen wurden jeweils fünf Teilproben entnommen, um auch festzustellen, wie stark das Untersuchungsergebnis in Abhängigkeit von der Probenahmestelle variiert. Aus Tab. 20 ist ersichtlich, daß die geometrischen Mittelwerte für Enterobacteriaceae bzw. Coliforme im Bereich von 10^3 bis 10^6 /g lagen.

Bei den Proben 2 und 3 streuten die einzelnen MPN-Werte erheblich; die Variationskoeffizienten betrugen mehr als 10 % (s. Tab. 27).

Tabelle 27: Enterobacteriaceae, Coliforme und "Fäkalcoliforme" in sieben Cagliata-Käsen (geometrische Mittelwerte und Variationskoeffizienten (VK) bei Untersuchung von jeweils fünf Teilproben)

Proben- nummer	Coliforme		Enterobacteriaceae		"Fäkalcoliforme"	
	$\bar{x}_g/g$	VK	$\bar{x}_g/g$	VK	$\bar{x}_g/g$	VK
1	$4,8 \times 10^3$	6,52	$7,2 \times 10^3$	9,58	./.	
2	$1,4 \times 10^3$	43,03	$2,5 \times 10^3$	41,29	./.	
3	$8,7 \times 10^3$	11,92	$8,7 \times 10^3$	15,22	./.	
4	$4,9 \times 10^4$	8,74	$5,1 \times 10^4$	9,77	$6,6 \times 10^3$	9,94
5	$6,9 \times 10^5$	5,31	$1,7 \times 10^6$	4,65	$3,1 \times 10^5$	2,37
6	$3,8 \times 10^6$	4,25	$6,1 \times 10^6$	6,63	$4,0 \times 10^5$	8,39
7	$1,6 \times 10^3$	5,59	$4,7 \times 10^3$	5,72	$1,4 \times 10^2$	13,89

Eine Gegenüberstellung der Ergebnisse der 35 Teilproben ergab in zehn Fällen (28,6 %) einen übereinstimmenden Coliformen- und Enterobacteriaceae-Gehalt, während fünfmal eine geringgradig höhere Coliformen-Zahl registriert wurde (Tab. 28). In den restlichen 20 Teilproben waren die Enterobacteriaceae-Gehalte höher, in einer um mehr als einen dekadischen Logarithmus.

Tabelle 28: Unterschiede in den wahrscheinlichsten Keimzahlen an Coliformen und Enterobacteriaceae in fünf Teilproben Cagliata-Käse mit niedrigerem Enterobacteriaceae-Gehalt

Coliforme/g		Enterobacteriaceae/g	
MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾	MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾
$4,5 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2 - 2,1 \times 10^4$	$2,5 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2 - 1,2 \times 10^4$
$0,4 \times 10^5$	$< 5,0 \times 10^3 - 2,0 \times 10^5$	$0,3 \times 10^5$	$< 5,0 \times 10^3 - 1,3 \times 10^5$
$2,5 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2 - 1,2 \times 10^4$	$9,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2 - 3,8 \times 10^3$
$0,4 \times 10^5$	$< 5,0 \times 10^3 - 2,0 \times 10^5$	$2,5 \times 10^4$	$4,0 \times 10^3 - 1,2 \times 10^5$
$2,5 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5 - 1,2 \times 10^7$	$9,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 3,8 \times 10^6$

⁺⁾ nach HOSKINS (1933)

In zwei der 35 Teilproben war die wahrscheinlichste Zahl an gasbildenden Coliformen etwas höher als die MPN für säurebildende Coliforme (Tab. 29).

Tabelle 29: Unterschiede in den wahrscheinlichsten Keimzahlen an gasbildenden (BGLB) und säurebildenden (VRB) Coliformen bei Cagliata-Proben

gasbildende Coliforme (BGLB)		säurebildende Coliforme (VRB)	
MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾	MPN	95 % -ige Vertrauensgrenzen ⁺⁾
$9,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 3,8 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4 - 2,1 \times 10^6$
$1,5 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5 - 4,4 \times 10^6$	$9,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 3,8 \times 10^6$

⁺⁾ nach HOSKINS (1933)

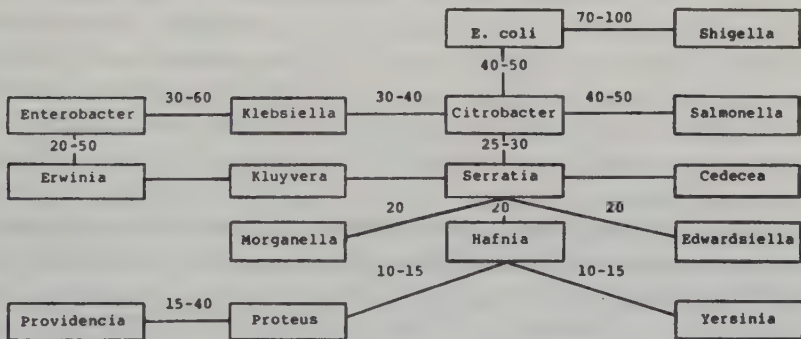
4. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Enterobacteriaceae, Coliforme und "Fäkalcoliforme" spielen hauptsächlich als Rekontaminanten in pasteurisierter Konsummilch und Milchprodukten, daneben aber auch als Vertreter der Rohmilchflora in Käse aus nichterhitztem Ausgangsmaterial eine große Rolle. Zur Verhinderung unerwünschter Effekte dieser Keime - Texturfehler (GLÄTTLI, 1963; BECKER, 1979; DILGER, 1981; GALLMANN, 1982; TEIPEN, 1982; GALLMANN und PUHAN, 1983) oder Geschmacksfehler in Käse (DILGER, 1981; GALLMANN, 1982); Herabsetzung der Haltbarkeitsdauer von Trinkmilch auf Grund der enzymatischen Aktivität der Keime im rohen Ausgangsmaterial (TOLLE et al., 1979); ein gewisses gesundheitliches Risiko durch pathogene Vertreter der Enterobacteriaceae, das sich in Erkrankungen nach dem Genuß von Milch- und Milchprodukten zeigte (SCHROEDER, 1967; COLLINS et al., 1968; MARTH, 1969; MARIER et al., 1973; BLÜMEL, 1975; KORNACKI und MARTH, 1982; BECKER und TERPLAN, 1985) - müssen hohe Anforderungen an eine hygienische Gewinnung, Behandlung sowie Be- und Verarbeitung gestellt werden. Im Rahmen dieser Arbeit sollte der Gehalt (wahrscheinlichste Keimzahlen) an Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" (Vertreter der Enterobacteriaceae, die bei 44 °C Gas aus Laktose und Indol aus Tryptophan bilden können) in pasteurisierter Konsummilch, Säuglings- und Kleinkindernahrung, Schnitt- und Weichkäse ermittelt werden. An Hand der für Enterobacteriaceae bzw. Coliformen resultierenden Keimgehalte sollte anschließend geprüft werden, ob die Werte für Enterobacteriaceae durchwegs oder bei einzelnen Produktgruppen deutlich höher waren und so der Enterobacteriaceae-Bestimmung gegenüber dem konventionellen Coliformen-Nachweis der Vorzug gegeben werden sollte. Weiterhin bestand die Aufgabe, im Rahmen der Untersuchung der Säuglings- und Kleinkindernahrungen festzustellen, ob eine zusätzlich eingeschaltete Wiederbelebungsphase, wie sie von MOSSEL und RATTO (1970) empfohlen wird, einen signifikanten Einfluß auf die Ergebnisse bei der Bestimmung der Enterobacteriaceae-, Coliformen- und "Fäkalcoliformen"-Gehalte hat.

4.1 Vorkommen von Enterobacteriaceae

Die Familie der Enterobacteriaceae wird von gramnegativen, aerob oder fakultativ anaerob wachsenden, nicht sporenbildenden Stäbchen gebildet, die unbeweglich oder infolge peritricher Begeißelung beweglich sind, fast ausnahmslos Nitrat zu Nitrit reduzieren, Glucose unter Säure- und / oder Gasbildung abbauen und eine negative Oxidase-Reaktion aufweisen (EDWARDS und EWING, 1972; BRENNER, 1984). Zu den Enterobacteriaceae gehören laut 9. Auflage von Bergey's Manual of Systematic Bacteriology die in Abb. 11 wiedergegebenen Genera.

Abbildung 11: DNA-Verwandtschaft zwischen Enterobacteriaceae.
Die Zahlen repräsentieren den ungefähren Verwandtschaftsgrad in Prozent (BRENNER, 1984)



Die Untersuchung von Lebensmitteln auf die Enterobacteriaceae in ihrer Gesamtheit erfolgt i.a., um einerseits die "Gute Herstellungs-Praxis" (GHP) - "good manufacturing practice" (GMP) - bei der Behandlung des Lebensmittels (Indikatorfunktion) und andererseits das Risiko einer Anwesenheit pathogener Keime (Indexfunktion) abschätzen zu können (s. Abschnitt 2.1.2).

Der Nachweis der Enterobacteriaceae richtete sich bei den eigenen Untersuchungen im wesentlichen nach den Vorschriften der Eiproduk-

te-Verordnung (1975), die weitgehend mit jenen des 1984 publizierten ISO-Entwurfes DIS 7402 übereinstimmen. Abweichend von dieser Methodik wurden allerdings die auch als Enterobacteriaceae-Enrichment-Broth (EE) bezeichnete (VAN SCHOTHORST et al., 1966) und als selektives Anreicherungsmedium dienende gepufferte Brillantgrün-Galle-Pepton-Glucose-Bouillon (MOSSEL et al., 1963) wie auch der hieraus beimpfte selektive Violet-Red-Bile-Glucose-Agar (VRBG) bei 30 °C und nicht bei 37 °C bebrütet. Dies geschah zum einen im Hinblick auf den Vergleich mit den ebenfalls bei 30 °C bestimmten Coliformen-Gehalten (s. Abschnitt 4.4), zum anderen auf Grund der Beobachtungen, daß infolge der Anwesenheit psychrotropher Enterobacteriaceae bei 30 °C mehr positive Ergebnisse (GALESLOOT und STADHOUDERS, 1968) bzw. höhere Enterobacteriaceae-Gehalte registriert wurden (MOSSEL et al., 1979; TAKACS et al., 1979b; MACIEJSKA-ROZCAN und BURZYNSKA, 1980). Außerdem wurde die EE-Broth abweichend von o.a. Vorschriften 48 h (statt 24 h) inkubiert, da die für den Nachweis der Coliformen (s. Abschnitt 4.2) verwendete Brillantgrün-Galle-Pepton-Laktose-Bouillon ebenfalls 48 h inkubiert wurde. Schließlich wurde anstelle einer Titerbestimmung aus der Anzahl der auf VRBG typischen und Oxidase-negativen Ausstriche nach Bildung der Indexziffer die Most Probable Number (MPN) kalkuliert.

Am seltensten wurden bei den eigenen Untersuchungen Enterobacteriaceae in pasteurisierter Konsummilch nachgewiesen, am häufigsten in Weichkäse (Tab. 30).

Tabelle 30: Vorkommen von Enterobacteriaceae in Milch und Milchprodukten

Produkt (Anzahl der Proben)	untere Nachweisgrenze	Anzahl der positiven Proben
Konsummilch (83)	0,3/ml	13 (15,7 %)
Säuglings- u. Kleinkindernahrung (94)	0,3/g	31 (33,0 %) ⁺⁾
Schnittkäse (76)	3/g	64 (84,2 %)
Weichkäse (103)	3/g	96 (93,2 %)

⁺⁾ Nachweise ohne Wiederbelebung

Von den im Handel gezogenen Konsummilchproben mit Enterobacteriaceae enthielten 9 (10,8 %) mindestens 10 Keime/ml, 6 davon 100 und mehr Enterobacteriaceae/ml. Eine gesicherte Beziehung zwischen dem Enterobacteriaceae-Gehalt und der Mindesthaltbarkeit der Milchproben gemäß § 2 der Konsummilch-Kennzeichnungs-Verordnung war nicht festzustellen. Es zeigte sich vielmehr, daß in den Produkten von vier der in die Untersuchungen einbezogenen acht Betriebe wiederholt positive Befunde zu registrieren waren. Da bei ordnungsgemäßer Pasteurisierung der Milch offensichtlich alle Enterobacteriaceae abgetötet werden (BUCHBINDER und ALFF, 1947; VON GAVEL, 1960; ABO-ELNAGA, 1966; SINGH und RANGANATHAN, 1980; u.a.), ist das Vorkommen von Enterobacteriaceae in pasteurisierter Milch die Folge einer Rekontamination. Die Ursachen für eine derartige Rekontamination, die in Abhängigkeit von der jeweiligen Betriebshygiene stark variieren kann, wurden in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Ein Vergleich der eigenen Daten mit jenen anderer Untersucher stößt insofern auf Schwierigkeiten, als zum einen pasteurisierte Konsummilch in der Vergangenheit fast ausschließlich auf Laktose-spaltende Enterobacteriaceae untersucht wurde und zum anderen teilweise erhebliche analytische Unterschiede beim Enterobacteriaceae-Nachweis gegeben sind. So hatte z.B. OTTE (1976) in Abhängigkeit von der Bebrütungstemperatur (25 bzw. 37 °C) bei 8 bzw. 7 von insgesamt 12 Trinkmilchproben vom zur Gesamtkeimzahlbestimmung eingesetzten Blutagar Enterobacteriaceae isoliert und hierfür - ausgehend von der Gesamtkeimzahl - geometrische Mittelwerte von 4×10^3 /ml (25 °C) bzw. 5×10^3 /ml (37 °C) errechnet. Auch TAKACS et al. (1979 a) registrierten vergleichsweise hohe Mittelwerte von etwa 10^2 /ml (flüssiges Violet-Red-Bile-Glucose-Medium) bzw. etwa 10^4 /ml (VRBG-Agar), doch bezogen sich diese Ergebnisse ebenfalls nur auf einen geringen und damit wenig repräsentativen Probenumfang (n = 10). BUSSE (1968) ermittelte dagegen bei der Untersuchung von 91 Trinkmilchproben mit EE-Broth und VRBG einen geometrischen Mittelwert von 0,98 Enterobacteriaceae/ml, ohne allerdings Angaben zur Häufigkeit Enterobacteriaceae-haltiger Proben zu machen. Dennoch kann von einer weitgehenden Übereinstimmung mit den eigenen Ergebnissen ausgegangen werden.

Der Anteil der Säuglings- und Kleinkindernahrungen mit Enterobacteriaceae (Nachweisgrenze: 0,3/g) war zwar mit 33 % etwa doppelt so hoch wie bei der pasteurisierten Konsummilch, doch waren Enterobacteriaceae-Gehalte von mindestens 10/g (dem von SKOVGAARD (1968) für derartige Produkte empfohlenen Standard) nur in 3,2 % der Proben (Tab. 12) nachweisbar. MOSSEL und RATTO (1970) konnten in 40 Säuglingsnahrungen Enterobacteriaceae ermitteln. KRAMPE (1972) führte entsprechende Untersuchungen nur mit VRBG als Medium durch und registrierte in 15 % der geprüften 60 Kindernahrungen mindestens 10 Enterobacteriaceae/g. OTTE (1976) hatte bei Anwendung der bereits erwähnten, von der eigenen Methodik erheblich abweichenden Technik in 12 Säuglingsnahrungen keine Enterobacteriaceae (Nachweisgrenze: 10/g) gefunden. Hierbei ist allerdings zu bedenken, daß von der Autorin nur eine geringe Anzahl von Proben - möglicherweise einer Produktionsstätte - untersucht wurde und die eigenen Resultate wie auch jene von KRAMPE (1972) erkennen lassen, daß nur die Produkte weniger Betriebe gehäuft Enterobacteriaceae aufwiesen. Offensichtlich spielt die Betriebshygiene - ähnlich wie bei der Konsummilchherstellung - eine wesentliche Rolle. Da die zur Produktion von Säuglings- und Kleinkindernahrung verwendete Rohmilch stets pasteurisiert wird und - eine ordnungsgemäße Wärmebehandlung vorausgesetzt - die in ihr enthaltenen Enterobacteriaceae abgetötet werden, ist beim Vorkommen dieser Keime im Endprodukt insbesondere an eine Kontamination während des Herstellungsprozesses (z.B. Verdampferabteilung, Vorlaufbehälter) zu denken. Bei besonders ungünstigen Verhältnissen können sich die Enterobacteriaceae während dieses Zeitraumes vermehren. Infolgedessen ist der Keimgehalt im Endprodukt relativ hoch, zumal diese Keime während des Trocknungsprozesses nur zum Teil abgetötet werden (GALESLOOT und STADHOUDERS, 1968). Die im Anschluß an die Trocknung mögliche Kontamination (seitens Gerätschaftsoberfläche, Luft, Verpackungsmaterial etc.) ist demgegenüber in quantitativer Hinsicht relativ unbedeutend (GALESLOOT und STADHOUDERS, 1968) und dürfte daher zumindest nicht für die hohen Enterobacteriaceae-Gehalte (≥ 100 /g) verantwortlich sein. Im übrigen konnte auch eine Beziehung zwischen Zusammensetzung der verschiedenen Säuglings- und Kleinkindernahrungen sowie deren Enterobacteriaceae-Gehalt ausge-

geschlossen werden.

Im Gegensatz zu den bisher erwähnten Produktgruppen enthielt der weit überwiegende Anteil (84,2 %) der untersuchten Schnittkäse Enterobacteriaceae (Nachweisgrenze: 3/g). OTTE (1976) bzw. VIKTOR (1984) hatten mit 40 % (37 °C) und 47,6 % (25 °C) bzw. 68 % deutlich niedrigere Prozentsätze registriert, GRIEM (1982) mit 94,3 % einen höheren. Der Anteil der Proben mit mindestens 10^3 Enterobacteriaceae/g (dem nach BRANDL (1984) in der Schweiz für "Halbhartkäse" zur Diskussion gestellten sog. Toleranzwert) belief sich bei den eigenen Untersuchungen auf 30,2 % und stimmte somit mit den von VIKTOR (1984) erhobenen Befunden (31,6 %) sehr gut überein. Nach LÜCK und DUNKELD (1981) enthielten 47 % von 130 südafrikanischen 4 - 8 Wochen alten Schnittkäsen mindestens 1500 Enterobacteriaceae/g, während nach OTTE (1976) alle positiven Proben mindestens 5×10^4 Enterobacteriaceae/g aufwiesen. Infolgedessen ergab sich bei OTTE mit 2×10^6 /g (25 und 37 °C) auch ein wesentlich höherer geometrischer Mittelwert als bei den eigenen Erhebungen mit 80,8/g. Diese Unterschiede dürften in erster Linie darauf zurückzuführen sein, daß unterschiedliches Material (z.B. verschiedene Käsesorten, ähnliche Käsesorten verschiedener Hersteller - unter besonderer Berücksichtigung unterschiedlicher technologischer Einrichtungen und differierender hygienischer Bedingungen - unterschiedliches Alter der Proben zum Zeitpunkt des Erwerbs) geprüft wurde. Hierfür sprechen auch die erst kürzlich von VIKTOR (1984) publizierten Resultate. Dieser Autor hatte z.B. zwar bei 90 % der untersuchten Steppenkäse, aber nur bei 61 % der Gouda-Käse Enterobacteriaceae gefunden und die von anderen Autoren beschriebene Keimzahlreduktion während der Lagerung von Schnittkäse bestätigt (s.a. Abschnitt 2.4.3). Außerdem ist zu berücksichtigen, daß die Ergebnisse bei der Untersuchung von Käse in Abhängigkeit von Entnahmestelle(n), Menge und Aufbereitung der Proben sowie Untersuchungsmethode erheblich variieren (KURMANN, 1958; WINTERER, 1976; BRANDL, 1979; GINZINGER, 1979; u.a.). Da für in der Bundesrepublik hergestellte Schnittkäse und halbfeste Schnittkäse generell wärmebehandelte Milch verwendet wird (MAIR-WALDBURG, 1974), ist eine Belastung inländischer Ware in der Regel auf eine Rekonta-

mination im Produktionsbetrieb zurückzuführen. Die vielfältigen Rekontaminationsmöglichkeiten wurden in Abschnitt 2.3 ausführlich dargestellt. Bei den in die Untersuchungen einbezogenen ausländischen, aus Rohmilch hergestellten Schnittkäsen kommt zusätzlich eine Kontamination der Milch bei der Gewinnung in Betracht. Dieser Faktor erwies sich bei den eigenen Untersuchungen jedoch zumindest in quantitativer Hinsicht als nicht signifikant, auch wenn in den aus Rohmilch hergestellten Produkten Enterobacteriaceae etwas häufiger und z.T. in etwas höheren Zahlen vorhanden waren.

Bei 96 (93,2 %) der untersuchten 103 Weichkäse verlief der Enterobacteriaceae-Nachweis (Nachweisgrenze: 3/g) positiv. Zu einem ähnlichen Ergebniss war mit 91,7 % auch OTTE (1976) bei allerdings nur 12 Proben gekommen, während GRIEM (1982) sowie HANGST und GLAESER (1984) nur Produkte mit Enterobacteriaceae fanden. Die graphischen Darstellungen von BECK und MANTEL (1974) lassen in dieser Hinsicht keine exakte Aussage zu. Die bei den eigenen Untersuchungen registrierten Enterobacteriaceae-Zahlen (MPN) reichten von 3 bis 10^7 /g; dabei wurden in 45,6 % der Proben MPN von mindestens 10^5 /g und in 73,8 % solche von mindestens 10^3 /g (nach BRANDL (1984) diskutierter Toleranzwert für Weichkäse in der Schweiz) ermittelt. Das geometrische Mittel der MPN belief sich auf $2,8 \times 10^4$ Enterobacteriaceae/g. Alle diese Werte stimmen nur teilweise mit jenen anderer Autoren überein. Den Angaben von BECK und MANTEL (1974) war zu entnehmen, daß 43,7 % von 119 Proben über 10^6 Enterobacteriaceae/g enthielten. OTTE (1976) hatte bei den 11 positiven Proben ein Minimum von 5×10^5 /g und ein Maximum von 3×10^8 /g errechnet und als geometrisches Mittel 1×10^7 /g genannt. HANGST und GLAESER (1984) hatten schließlich bei 12 Proben Enterobacteriaceae-Gehalte von 4 bis $3,9 \times 10^5$ /g registriert und bei 66,7 % mindestens 10^3 Enterobacteriaceae/g bzw. bei 8,3 % mindestens 10^5 /g. Als Ursachen für diese differierenden Resultate kommen insbesondere die bereits beim Schnittkäse aufgeführten Faktoren in Frage (BRANDL, 1976, 1979 und 1984; BRANDL et al., 1978; SONNENMOSER und KESSLER, 1984).

Offensichtlich besteht bei Weichkäse ein qualitativer, vielleicht aber auch ein quantitativer Unterschied in der Belastung mit Ente-

robacteriaceae in Abhängigkeit davon, ob es sich um Produkte mit Schimmel (z.B. Camembert, Brie) oder mit Schmiere (z.B. Limburger, Romandur) handelt. Bei den eigenen Untersuchungen wurde nämlich bei 41 Proben mit Schmierebildung ein geometrischer Mittelwert von $1,2 \times 10^5/\text{g}$ registriert, bei 62 Proben mit Schimmelflora nur ein solcher von $1,1 \times 10^4/\text{g}$. Diese Differenz ließ sich statistisch absichern ($p \ll 0,001$), nicht aber jene zwischen den parallel und nur zum Vergleich mit den Daten von GRIEM (1982) berechneten - für sich über mehrere Zehnerpotenzen erstreckende Keimzahlen aber nicht geeigneten - arithmetischen Mittelwerten ($2 \times 10^6/\text{g}$ bei Weichkäse mit Schimmel und $1,3 \times 10^6/\text{g}$ bei Weichkäse mit Schmiere). GRIEM (1982) kam zwar in quantitativer Hinsicht nicht zu wesentlichen Differenzen ($4,8 \times 10^5/\text{g}$ bei 37 Proben mit Schimmel und $2 \times 10^5/\text{g}$ bei 30 Proben mit Schmiere), ermittelte aber deutliche Unterschiede in der Enterobacteriaceae-Flora. Weichkäse mit Schimmel enthielten in der Hauptsache *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* und *Klebsiella aerogenes*, Weichkäse mit Schmiere überwiegend *Proteus* spp., *Citrobacter freundii* und *Hafnia*.

Da die Weichkäseherstellung ebenfalls generell von pasteurisierter Milch ausgeht (SONNENMOSER und KESSLER, 1984), ist die Anwesenheit von Enterobacteriaceae in Weichkäse i.d.R. auf eine Rekontamination im Produktionsbetrieb zurückzuführen. Die vielfältigen Rekontaminationsmöglichkeiten wurden im deutschen Schrifttum in letzter Zeit von TEIPEN (1982), BUSSE (1983) sowie SONNENMOSER und KESSLER (1984) ausführlich besprochen (s. Abschnitt 2.3). Die Tatsache, daß bei Weichkäse der Anteil Enterobacteriaceae-haltiger Proben höher ist als bei Schnittkäse und daß die Enterobacteriaceae-Gehalte/g generell höher sind, ist teilweise auf die unterschiedlichen Produktionsbedingungen zurückzuführen (GRIEM, 1982). Außerdem findet während der Reifung bzw. Lagerung von Schnittkäse i.a. keine Vermehrung von Enterobacteriaceae, sondern eher eine Abnahme statt, während insbesondere in den Randschichten von Weichkäse aufgrund des pH-Anstieges bei der Reifung eine deutliche Zunahme von Enterobacteriaceae zu beobachten ist. Es gibt nach SONNENMOSER und KESSLER (1984) sowie TOLLE et al. (1984 b) auch Hinweise dafür, daß trotz niedriger Enterobacteriaceae-Gehalte im Bereich der herstel-

lenden Käserei beim anschließenden Transport und bei der Lagerung im Handel bzw. beim Konsumenten selbst bei 6 °C eine Vermehrung um bis zu 4 Zehnerpotenzen stattfinden kann (Einzelheiten hierzu finden sich in den Abschnitten 2.3.3 und 2.4.3).

Die Gründe für die beobachteten signifikanten Differenzen ($p < 0,001$) zwischen den Enterobacteriaceae-Gehalten der 62 inländischen ($\bar{x}_g$: $1,4 \times 10^5/g$) und der 41 ausländischen Weichkäse ($\bar{x}_g$: $2,5 \times 10^3/g$) sind unbekannt. Möglicherweise sind hierfür Unterschiede in der angewandten Technologie verantwortlich.

4.2 Vorkommen von Coliformen

Der Begriff "Coliforme" hat keine taxonomische Funktion, wird aber aus praktischen Gründen seit vielen Jahren verwendet.

Unter dieser Bezeichnung werden alle Enterobacteriaceae zusammengefaßt, die bei 30 - 37 °C Laktose innerhalb von 48 h unter Gas- und / oder Säurebildung abbauen. Als im Zusammenhang mit Milch und Milchprodukten relevante Laktose-spaltende Enterobacteriaceae im klassischen Sinn werden i.a. die Genera *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* und *Citrobacter* angesehen (s.a. Abb. 11). Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß auch Keime der Gattungen *Kluyvera* und *Hafnia* (KLEEBERGER et al., 1980) bzw. der Spezies *Serratia liquefaciens* (GRIEM, 1982) beim Nachweis Coliformer erfaßt werden (s.a. Abschnitt 2.1.2).

Im Gegensatz zur Trinkwasseruntersuchung erfolgt der Nachweis der Coliformen in Milch und Milchprodukten nicht unter dem Aspekt eines Hinweises auf eine fäkale Verunreinigung und damit mögliche Kontamination mit pathogenen Darmkeimen, sondern zur Überprüfung der Effektivität betriebshygienischer Maßnahmen (GHP) bei Gewinnung, Behandlung sowie Be- und Verarbeitung von Milch. Untersuchungen an in eine Lebensmittelvergiftung implizierten Weichkäsen haben im übrigen gezeigt, daß aus niedrigen Coliformen-Zahlen nicht unbedingt eine Sicherheit hinsichtlich der Belastung der Produkte mit enteropathogenen *E. coli* (EEC) abzuleiten ist (MARIER et al., 1973), da die EEC häufig Laktose-negativ oder anaerogen sind und daher beim Nachweis Coliformer nicht erfaßt werden.

Der Nachweis der Coliformen erfolgte bei den eigenen Untersuchun-

gen in Form der MPN - Technik mit jeweils drei Röhrchen pro Verdünnungsstufe und Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon (BGLB) als Nährmedium gemäß DIN 10 172 , Teil 1. Mit diesem Verfahren stimmen die amtlichen Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG und internationale Vorschriften (z.B. ISO 4831 und ISO / DIS 5541/2) sachlich überein.

Die bereits bei der Untersuchung auf Enterobacteriaceae beobachtete Tendenz hinsichtlich der Häufigkeit positiver Befunde bei den geprüften vier Produktionsgruppen (Tab. 30) zeigte sich erwartungsgemäß auch bei der Bestimmung der Coliformen (Tab. 31).

Tabelle 31: Vorkommen von Coliformen in Milch und Milchprodukten

Produkt (Anzahl der Proben)	untere Nach- weisgrenze	Anzahl der positiven Proben
Konsummilch (83)	0,3/ml	14 (16,9 %)
Säuglings- u. Kleinkindernahrung (94)	0,3/g	17 (18,1 %) ⁺⁾
Schnittkäse (76)	3/g	59 (77,6 %)
Weichkäse (103)	3/g	95 (92,2 %)

⁺⁾ Nachweise ohne Wiederbelebung

Acht (9,6 %) der 83 im Zeitraum von Ende März bis Mitte Mai 1983 untersuchten Proben pasteurisierter Konsummilch enthielten mindestens 10 Coliforme/ml, fünf davon sogar mindestens 100 Coliforme/ml. Diese Proben stammten aus vier der acht Betriebe, von denen Proben im Rahmen der eigenen Untersuchungen geprüft wurden. Auch TOLLE et al. (1971) hatten bei der Untersuchung von pasteurisierter Trinkmilch verschiedener Versorgungsgebiete erhebliche Unterschiede festgestellt und später (1981) die Ansicht vertreten, daß "die Rekontamination von ca. einem Drittel bis zur Hälfte der Molkereien gut bis sehr gut beherrscht wird".

Bei der parallel zur MPN-Auswertung durgeführten Bestimmung des Coliformentiters ergab sich, daß 72 Proben (86,8 %) in 1 ml als negativ zu beurteilen waren (Tab. 9). Mit Ausnahme von KLIMA (1973), der bei 92 % von 100 im Gußplattenverfahren mit VRB untersuchten Trinkmilchproben keine Coliformen nachweisen konnte, wurden in den letzten 20 Jahren für die Bundesrepublik Deutschland stets schlechtere Resultate berichtet. Für negative Coliformtiter von 1 ml wurden in dieser Zeit u.a. folgende Prozentsätze genannt: 22,51 % (TOLLE et al., 1971), 52,08 % (TOLLE et al., 1971), 66,7 % (OTTE, 1976), 69 % (TERPLAN et al., 1966), 73,7 % (SUHREN et al., 1980), 79,6 % (DREWS et al., 1983) bzw. 80,7 % (LIMMER, 1979 a).

In 17 (18,1 %) von 94 Säuglings- und Kleinkindernahrungen auf Trockenmilchbasis wurden Coliforme (Nachweisgrenze: 0,3/g) gefunden, in sieben Proben (7,5 %) beliefen sich die wahrscheinlichsten Coliformen-Zahlen auf mindestens 1/g (Tab. 12); SCHWAB et al. (1982) hat-

Tabelle 32: Probenahmepläne und mikrobiologische Standards für Säuglings- und Kleinkindernahrung

Kriterium	n ⁺)	c	m	M	Quelle
Coliforme	5	1	≤1,8	20	COLLINS-THOMPSON et al. (1980) FAO / WHO (1983)
Coliforme	5	1	≤3	20	
"Fäkalcoliforme"	5	2	≤3	10	ICMSF (1974)

n⁺) = Anzahl der zu untersuchenden Parallelproben

c = Höchstzahl der Parallelproben, die den Grenzwert "m" überschreiten dürfen

m = Keimzahl (MPN) /g, die maximal von "c" Parallelproben überschritten werden darf

M = Keimzahl /g, die von keiner Parallelprobe überschritten werden darf

ten bei amerikanischen Produkten noch bessere Resultate ermittelt: 1322 von 1329 Proben waren frei von Coliformen (Nachweisgrenze: 3/g), in den restlichen sieben Proben (0,5 %) betrugen die MPN bis zu 75/g. Eine der untersuchten Proben wäre aufgrund einer Überschreitung des Grenzwertes "M" (s. Tab. 32) gemäß den kanadischen Vorschlägen (COLLINS-THOMPSON et al., 1980) und den Empfehlungen der FAO/WHO (1983) zu beanstanden gewesen.

Bei der parallel zur MPN-Auswertung durchgeführten Bestimmung des Coliformentiters ergab sich, daß 83 Proben (88,3 %) in 1 g als negativ zu beurteilen waren (s. Tab. 13). Nur eine einzige Probe (1,1 %) entsprach nicht der Verordnung über diätetische Lebensmittel, nach der "in 0,01 Gramm des trocken in den Verkehr gebrachten Lebensmittels Coli- und koliforme Bakterien nicht nachweisbar sein dürfen"; allerdings hat der Nachweis entsprechend Anlage 4 dieser Verordnung mit TTC-Bouillon nach SCHOENBERG zu erfolgen, auf deren mangelhafte Eignung für diesen Zweck bereits wiederholt hingewiesen wurde (Literatur hierzu siehe bei KRAMPE (1972). Ein Vergleich der eigenen Ergebnisse, mit denen anderer Autoren wird dadurch erschwert, daß zumeist differierende Untersuchungstechniken (insbesondere hinsichtlich Probenmenge, Nachweismedium und Auswertung) zur Anwendung kamen. Zu den in gleicher Weise durchgeführten Untersuchungen von KRAMPE (1972) und OTTE (1976) ergibt sich eine recht gute Übereinstimmung, wenn davon abgesehen wird, daß KRAMPE noch von einem deutlich niedrigeren Probenanteil mit negativem Coliformentiter in 1 g berichtete (Tab. 33). Bei den mit abweichenden Methoden durchgeführten Untersuchungen erstreckte sich der Anteil negativer Befunde von 100 % (PUSCH, 1958; BONTEMPS und SIMON, 1965) bis 70,3 % (RICHTER, 1959), wobei sich diese Werte auf z.T. unterschiedliche Probenmengen bezogen (s.a. Tab. 13).

Tabelle 33: Häufigkeiten verschiedener negativer Coliformtiter bei Säuglings- und Kleinkindernahrungen

Anzahl der untersuchten Proben	Coliformtiter negativ in			Autor
	1,0 g	0,1 g	0,01 g	
60	32 (53,3 %)	58 (96,7 %)	59 (98,3 %)	KRAMPE (1972)
12	11 (91,7 %)	11 (91,7 %)	12 (100 %)	OTTE (1976)
94	83 (88,3 %)	91 (96,8 %)	93 (98,9 %)	eigene Untersuchungen

77,6 % (59) der 76 Schnittkäse des Handels enthielten Coliforme in nachweisbaren Mengen ($\geq 3/g$). Der Anteil der Proben mit mindestens 10^3 Coliformen/g belief sich dabei auf 22,3 %; jeweils 2 Proben (2,6 %) dieser Käse wiesen 10^4 bzw. 10^5 Coliforme/g auf (Tab. 22). Damit lagen ungünstigere Verhältnisse vor als sie von COLLINS-THOMPSON et al. (1977), TESONE et al. (1981), GALLMANN (1982) sowie WILLIS et al. (1982) für ausländische Produkte berichtet wurden (Einzelheiten s. Tab. 11). ELLIOTT (1978) dagegen berichtete, daß in 22 % von 164 kanadischen Schnittkäsen mehr als 10^3 Coliforme/g nachzuweisen waren, und auch OTTE (1976) war bei deutschen Schnittkäsen zu vergleichbaren Resultaten gekommen: 20 % der von ihr untersuchten Proben wiesen positive Coliformentiter von 10^{-3} und höher auf. LÜCK und DUNKELD (1981) hatten bei 4 - 8 Wochen alten südafrikanischen Schnittkäsen sogar Coliformen-Zahlen bis $3,6 \times 10^7/g$ registriert und in 43 % der Proben mindestens 10^3 Coliforme/g gefunden. Auf mögliche Gründe für diese Unterschiede wurde bereits im vorhergehenden Abschnitt (4.1) hingewiesen.

Die in kanadischen Standards für Käse (COLLINS-THOMPSON et al., 1977) angeführten Grenzwerte "M" (Tab. 34) wurden von 5,3 % der

Tabelle 34: Probenahmepläne und mikrobiologische Standards für Käse, die aus pasteurisierter und nichtpasteurisierter Milch hergestellt sind (COLLINS-THOMPSON et al., 1977)

Kriterium	Käse aus							
	pasteurisierter Milch n ^{+) c m M}				unpasteurisierter Milch n ^{+) c m M}			
Coliforme	5	2	500	1500	5	2	5000	50000
"Fäkalcoliforme"	5	2	100	500 ⁺⁺⁾	5	2	500	1000 ⁺⁺⁾

^{+) s. Tab. 32}

⁺⁺⁾ <2000 nach ERDMAN (1984)

Schnittkäseproben überschritten, und zwar von 9,5 % der Käse aus Rohmilch und 3,6 % der Käse aus wärmebehandelter Milch. Die von COLLINS-THOMPSON et al. (1977), ELLIOTT (1978), GALLMANN (1982) sowie GALLMANN und PUHAN (1983) erwähnten Unterschiede im Coliformen-Gehalt von Schnittkäse aus pasteurisierter bzw. roher Milch konnten somit bei den eigenen Untersuchungen in der Tendenz bestätigt aber statistisch nicht abgesichert werden.

Die ungünstigsten Verhältnisse ergaben sich erwartungsgemäß bei den Weichkäseproben. 92,2 % der Weichkäse aus dem Handel enthielten Coliforme in nachweisbaren Mengen ($\geq 3/g$); etwa die Hälfte (47,6 %) der untersuchten 103 Proben hatte Coliformen-Zahlen von mindestens $10^4/g$, etwa ein Drittel (31,1 %) solche von mindestens $10^5/g$ und noch etwa ein Zehntel (10,7 %) solche von mindestens $10^7/g$ (s. Abb. 9). Das geometrische Mittel für diese Proben belief sich auf $7,5 \times 10^3/g$. Eindeutig bessere Ergebnisse hatten nur COLLINS-THOMPSON et al. (1977) in Kanada erzielt, die bei etwa zwei Drittel der untersuchten 220 Proben maximal 10^2 Coliforme/g fanden (s. Tab. 7), sowie RAY und SPECK (1978), die bei 24 Proben einen Mittelwert von 13 Coliformen/g errechneten. Die von HANGST und GLAESER (1984) bei Untersuchungen von nur 12 Proben erhobenen Befunde (10 Proben ent-

hielten zwischen 4×10^1 und $1,1 \times 10^6$ Coliforme/g) waren zwar ebenfalls noch etwas günstiger als die eigenen Resultate, doch hatten OTTE (1976), TESONE und QUEVEDO (1978), BUSSE (1980) sowie TOLLE et al. (1980; 1984 a) noch stärkere Belastungen mit Coliformen beobachtet (Einzelheiten s. Tab. 7). Möglicherweise liegen in Kanada andere Verhältnisse bei Produktion und Vertrieb von Weichkäse vor, zumal nach BUSSE (1983) "Coliformen-Zahlen von etwa 10^3 /g immer nur über eine begrenzte Betriebsdauer eingehalten werden können". Nach Ansicht dieses Autors handelt es sich dabei um "Extremwerte, die beim gegenwärtigen Stand der Technik in einer durchschnittlichen Weichkäserei nicht realisierbar sind". Auch SONNENMOSE und KESSLER (1984) wiesen darauf hin, daß sich bis zur Auslieferung Coliformen-Zahlen von 10^3 /g nur mit zusätzlichen Maßnahmen bei der Produktion (z.B. zweite Pasteurisierung nach Milchlagerung, verstärkte Reinigung der Gerätschaften) und einer Kühlagerung der Produkte nach Abpackung unter 5°C erreichen lassen. Es wird daher in der Bundesrepublik für Weichkäse vorerst ein Toleranzwert von 10^4 Coliformen/g angestrebt (TOLLE et al., 1984 b). Im europäischen Ausland, insbesondere Frankreich, hat man jedoch auch bereits Möglichkeiten gefunden, den überwiegenden Anteil der Weichkäse mit geringeren Coliformen-Gehalten in den Handel zu bringen. Dies zeigte sich im Rahmen der eigenen Untersuchungen z.B. daran, daß etwa 60 % der inländischen und nur etwa 30 % der ausländischen Weichkäse den erwähnten Toleranzwert von 10^4 /g überschritten (Tab. 26). Die für europäische Verhältnisse offensichtlich noch zu strengen kanadischen Anforderungen (Tab. 34) hätten 34,1 % der ausländischen Weichkäse hinsichtlich des Grenzwertes "M" nicht erfüllt; von den deutschen Produkten wären dementsprechend sogar 80,7 % zu maßregeln gewesen.

Zwischen den Coliformen-Gehalten der Weichkäse mit Schmierelflora ($\bar{x}_g$: $1,3 \times 10^4$ /g) bzw. mit Schimmelflora ($\bar{x}_g$: $5,2 \times 10^3$ /g) bestanden zwar geringe Unterschiede (s. Tab. 25), doch waren diese Differenzen im Gegensatz zu den Enterobacteriaceae-Gehalten statistisch nicht abzusichern. Dies dürfte zumindest teilweise darauf zurückzuführen sein, daß die bei Weichkäse mit Schmiere i.a. dominierenden *Proteus* spp. (GRIEM, 1982) Laktose nicht spalten und daher bei der Bestimmung der Coliformen nicht erfaßt werden.

4.3 Vorkommen von "Fäkalcoliformen"

Als "Fäkalcoliforme" werden die Coliformen bezeichnet, die innerhalb von 48 h bei erhöhten Temperaturen - überwiegend bei 44 °C bis 45,5 °C (ICMSF, 1978) - Laktose unter Gas- und / oder Säurebildung abbauen und Indol bilden. (Im nordamerikanischen Sprachraum wird in der Regel auf die Prüfung des Indolbildungsvermögens verzichtet). Der Nachweis der "Fäkalcoliformen" erfolgte ursprünglich, um Coliforme fäkalen von solchen nicht-fäkalen Ursprungs aufgrund der erhöhten Bebrütungstemperatur abzugrenzen und somit die relativ aufwendigen Untersuchungen auf *E. coli* oder eng verwandte Varianten mittels IMVEC-Test bei der Abschätzung des Risikos einer möglichen fäkalen Verunreinigung zu ersetzen (ICMSF, 1978). Es zeigte sich allerdings, daß diese Methode keine sichere Differenzierung zwischen Coliformen fäkalen und Coliformen nicht-fäkalen Ursprungs erlaubt. Da die "Fäkalcoliformen" ubiquitär verbreitet sind und in zahlreichen Lebensmitteln gefunden werden (CHORDASH und INSALATA, 1978), dienen sie in erster Linie als Indikator-Mikroorganismen. Allerdings kann die Anwesenheit in Einzelfällen auch Folge einer fäkalen Verunreinigung des betreffenden Lebensmittels sein. Die Abwesenheit bzw. die Anwesenheit nur geringer Mengen an "Fäkalcoliformen" bietet jedoch - ähnlich wie bereits für die Coliformen erwähnt - keine Gewähr dafür, daß in dem betreffenden Produkt keine bzw. nicht krankmachende Mengen an EEC vorhanden sind, da ein nicht erheblicher Prozentsatz der EEC-Stämme nicht bei Temperaturen über 41,5 °C wächst (MEHLMANN und ROMERO, 1982). Hinzu kommt, daß die EEC z.T. Laktose-negativ oder anaerogen sind.

Der Nachweis der "Fäkalcoliformen" erfolgte bei den eigenen Untersuchungen entsprechend dem von MACKENZIE et al. (1948) vorgeschlagenen Prinzip durch Prüfung der nach Inkubation bei 30 °C Gasbildung zeigenden BGLB-Röhrchen auf die Anwesenheit von Keimen, die bei 44 °C in BGLB und Trypton-Bouillon positive Ergebnisse (Gas- und Indolbildung) erbringen. Aus der Zahl der hinsichtlich beider Kriterien positiven Röhrchen pro Verdünnungsstufe wurde der Gehalt an "Fäkalcoliformen" mittels MPN-Technik bestimmt. Dieses Verfahren unterscheidet sich vom ISO-Methodenentwurf DIS 7251 (1983) nur dadurch, daß in letzterem zum Nachweis der Laktosespaltung andere

Medien und Bebrütungstemperaturen - Laurylsulfat-Tryptose-Bouillon (35 oder 37 °C) und E.C. Bouillon (45 °C) - vorgeschlagen werden. Hinsichtlich anderer Methoden zur Erfassung von "Fäkalcoliformen" wird auf die Arbeit von LILIENTHAL (1985) verwiesen.

Alle 83 Proben pasteurisierter Konsummilch waren frei von "Fäkalcoliformen" ($<0,3/\text{ml}$). Zu den gleichen Ergebnissen kam auch LILIENTHAL (1985) bei der Untersuchung der gleichen Proben mit einer verkürzten MPN-Technik bzw. dem auf ANDERSON und BAIRD-PARKER (1975) zurückgehenden Membranverfahren. Diese Ergebnisse waren besser als jene von MURRAY (1960), der bei 2,2 % von 7432 Proben "Fäkalcoliforme" registrierte. Möglicherweise sind die Unterschiede saisonbedingt, da MURRAY in der mit den eigenen Erhebungen vergleichbaren Jahreszeit (April/Mai) mit durchschnittlich 0,3 % auch einen deutlich niedrigeren Prozentsatz ermittelte als in den Monaten Juni bis Dezember. Ähnliches hatte zuvor schon PAPAVASSILIOU (1957) bezüglich des Vorkommens von E. coli in pasteurisierter Konsummilch berichtet. Allerdings können auch molkereichspezifische Unterschiede in der Enterobacteriaceae-Flora pasteurisierter Milch Ursache für diese Differenz sein, wie der von KLEEGER et al. (1980) durchgeführte Vergleich verschiedener Floraanalysen im Hinblick auf E. coli zeigte.

Ähnlich günstig waren die Resultate bei den Säuglings- und Kleinkindernahrungen (Tab. 35). Nur eine der untersuchten 94 Proben ent-

Tabelle 35: Vorkommen von "Fäkalcoliformen" in Milch und Milchprodukten

Produkt (Anzahl der Proben)	untere Nachweis- grenze	Anzahl der positiven Proben
Konsummilch (83)	0,3/ml	0 (0,0 %)
Säuglings- u. Kleinkindernahrung (94)	0,3/g	1 (1,1 %) +)
Schnittkäse (76)	3/g	31 (40,8 %)
Weichkäse (103)	3/g	72 (69,9 %)

+) Nachweise ohne Wiederbelegung

hielt - wie auch LILIENTHAL (1985) mit zwei anderen Methoden feststellte - "Fäkalcoliforme", und zwar mindestens 10^2 /g. Diese Probe überschritt damit den Grenzwert "M" (10/g) in dem von der ICMSF (1974) für derartige Produkte vorgeschlagenen Probenahmepläne (s. Tab. 32). Auch andere Autoren hatten kaum "Fäkalcoliforme" in Säuglings- und Kleinkindernahrung gefunden. So hatte KÖNNING (1972) "Fäkalcoliforme" in einer von 60 Säuglingsnahrungen nachgewiesen und SCHWAB et al. (1982) bei über 1300 Proben stets MPN < 3 /g registriert. Dieses seltene Vorkommen von "Fäkalcoliformen" ist offensichtlich nicht dadurch bedingt, daß in großen Zahlen vorhandene subletal geschädigte Keime ohne vorherige Wiederbelebung nicht erfaßt werden können (s. Abschnitt 4.5).

Der Anteil der Schnittkäseproben mit "Fäkalcoliformen" (≥ 3 /g) betrug 40,8 % (s. Tab. 22), jener mit mindestens 10^1 /g 23,7 %. 15,8 % der untersuchten 76 Proben enthielten noch mindestens 10^2 /g und 5,3 % sogar mindestens 10^3 "Fäkalcoliforme"/g. LILIENTHAL (1985) war bei der Untersuchung der gleichen Produkte sowohl mit der verkürzten MPN-Technik als auch mit dem Membranverfahren hinsichtlich des Prozentsatzes mit mindestens 10^1 /g zu dem gleichen Ergebnis gekommen. Den nach ERDMAN (1984) in den geänderten kanadischen Probenahmeplänen (s. Tab. 34) festgelegten Grenzwert "M" von < 2000 "Fäkalcoliformen"/g überschritt keine der Proben, den von LÜCK und DUNKELD (1981) für 4 - 8 Wochen alten Käse vorgeschlagenen Grenzwert von < 100 "Fäkalcoliformen"/g 15,8 % der Proben. Beim Vergleich der eigenen Resultate mit jenen anderer Autoren zeigte sich, daß nur COLLINS-THOMPSON et al. (1977) geringere Kontaminationsraten bei den von ihnen geprüften 191 halbfesten Schnittkäsen beobachtet hatten, während FRANK und MARTH (1978), LÜCK und DUNKELD (1981), TESONE et al. (1981), GRIEM (1982) sowie VIKTOR (1984) von höheren Belastungen mit "Fäkalcoliformen" berichteten (Tab. 12). Auf die möglichen Gründe für diese Unterschiede wurde bereits hingewiesen. Bei Berücksichtigung der Art des Ausgangsmaterials (rohe bzw. wärmebehandelte Milch) stellte sich heraus, daß einerseits "Fäkalcoliforme" mit 42,9 % gegenüber 40,0 % zwar etwas häufiger nachweisbar waren (Tab. 22), andererseits aber Proben mit mindestens 10^2 "Fäkalcoliformen"/g etwas häufiger bei den Schnittkäsen aus wärmebehandelter Milch gefunden wurden (16,4 % gegen-

über 14,3 %) und solche mit 10^3 /g überhaupt nur bei letzteren. Zwischen dem Vorkommen von "Fäkalcoliformen" in Schnittkäse aus roher oder wärmebehandelter Milch bestehen somit offensichtlich keine deutlichen Unterschiede. Dieser Tatsache trägt auch der erwähnte kanadische mikrobiologische Standard Rechnung, der bezüglich des Grenzwertes "M" in gleicher Weise für Käse aus pasteurisierter bzw. nicht-pasteurisierter Milch gilt (Tab. 34).

Die Weichkäse waren von den untersuchten Produkten nicht nur am häufigsten mit "Fäkalcoliformen" (≥ 3 /g) kontaminiert (Tab. 35), sondern wiesen mit 10^5 /g auch die höchsten "Fäkalcoliformen"-Gehalte auf. Der Anteil der Proben mit mindestens 10^2 /g belief sich auf 39,8 %, jener mit mindestens 10^3 /g auf 22,3 %. LILIENTHAL (1985) hatte im Übrigen bei Durchführung der verkürzten MPN-Technik bzw. des Membranverfahrens vergleichbare Resultate erzielt (23,3 % bzw. 24,5 % der Proben mit mindestens 10^3 "Fäkalcoliformen"/g). Bei Zugrundelegung des nach ERDMAN (1984) geänderten kanadischen Grenzwertes für "M" (< 2000 /g) bzw. des von einer Expertengruppe des INTERNATIONALEN MILCHWIRTSCHAFTSVERBANDES (1985) empfohlenen Grenzwert "M" (10^3 /g) wären 22,3 % der Proben zu beanstanden gewesen. Es wurden bei den eigenen Untersuchungen etwa die gleichen Verhältnisse registriert wie sie vorher von FRANK und MARTH (1978), TOLLE et al. (1980) sowie FRANKE (1982) beschrieben worden sind. Deutliche Abweichungen ergaben sich nur zu COLLINS-THOMPSON et al. (1977), die erheblich seltener "Fäkalcoliforme" fanden, bzw. zu TESONE und QUEVEDO (1978) sowie GRIEM (1982), die wesentlich höhere Kontaminationsraten feststellten. Während zwischen Weichkäse mit Schimmel und Weichkäse mit Schmiere keine signifikanten Unterschiede im "Fäkalcoliformen"-Gehalt gegeben waren, bestanden solche zwischen inländischen ($\bar{x}_g: 1,7 \times 10^2$ /g) und ausländischen ($\bar{x}_g: 3,2 \times 10^1$ /g) Produkten ($p < 0,05$). Die Verhältnisse entsprachen somit - wenn auch in etwas abgeschwächter Form - jenen bei der Ermittlung der Enterobacteriaceae und Coliformen.

4.4 Vergleich der Ergebnisse des Enterobacteriaceae- und Coliformen-Nachweises

Die Coliformen dienen seit langem (McCRADY und LANGEVIN, 1932) als wichtige Hygieneindikatoren bei der Prüfung von Milch und anderen

Lebensmittlen. Ausgehend von SEELIGER (1952) wurde allerdings die Eignung der Coliformen für diese Zwecke zwischenzeitlich wiederholt infragegestellt und insbesondere von der Arbeitsgruppe um MOSSEL (MOSSEL, 1957; 1964; 1977; 1981 und 1982; MOSSEL et al., 1963; DRION und MOSSEL, 1972 und 1977; MOSSEL et al., 1979) vorgeschlagen, den Nachweis auf alle Enterobacteriaceae auszudehnen. Begründet wurde dieser Vorschlag damit, daß Coliforme eine taxonomisch nicht eindeutig definierte Gruppe von Mikroorganismen darstellen und ihr Nachweis in Abhängigkeit von der Untersuchungstechnik (s.a. WEISS und BUSSE, 1968) sehr unterschiedliche Keime umfasse, daß eine Unterschätzung des Gesundheitsrisikos möglich sei, wenn der Anteil der anaerogenen bzw. Laktose-negativen Enterobacteriaceae überwiege, und daß eine zu gute bakteriologische Beschaffenheit vorgetäuscht werden könne, da in vielen Lebensmitteln eindeutig weniger Coliforme vorhanden seien (häufig bis zu vier Zehnerpotenzen) als Enterobacteriaceae. Dennoch wird bei der Untersuchung von Milch und Milchprodukten weiterhin dem klassischen Nachweis Coliformer zumeist der Vorzug gegeben, zumal in diesbezüglichen Rechtsvorschriften fast nie Grenzwerte für die Enterobacteriaceae in ihrer Gesamtheit genannt werden. Es sollte daher geprüft werden, ob in den in die eigenen Untersuchungen einbezogenen vier Produktgruppen Enterobacteriaceae wesentlich häufiger als Coliforme vorkommen und ob bei Milch und Milchprodukten der Enterobacteriaceae-Bestimmung gegenüber dem konventionellen Coliformen-Nachweis in Zukunft der Vorzug gegeben werden sollte.

Der Tabelle 36 ist zu entnehmen, daß hinsichtlich der Anzahl positiver Befunde nur bei den Säuglings- und Kleinkindernahrungen ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) besteht. Bei Betrachtung der Einzelergebnisse stellte sich jedoch heraus, daß nur bei drei der Enterobacteriaceae-positiven, Coliformen-negativen Proben Enterobacteriaceae MPN von $> 0,9/g$ ermittelt wurden, und zwar bei zwei Proben 2/g und bei einer Probe 20/g. Somit wäre aber - wenn die Grenzwerte in dem kanadischen Standard bzw. von der FAO/WHO (s. Tab. 32) sich nicht auf Coliforme, sondern Enterobacteriaceae in ihrer Gesamtheit bezögen - keine zusätzliche Überschreitung der dort genannten Grenzwerte "M" (20/g) zu verzeichnen gewesen. Aus den geometrischen Mittelwerten für die MPN der positiven Proben

Tabelle 36: Vorkommen von Enterobacteriaceae oder Coliformen in Milch und Milchprodukten

Produkt (Anzahl der Proben)	untere Nachweis- grenze	Anzahl (Anteil) positiver Proben	
		Enterobacteriaceae	Coliforme
Konsummilch (83)	0,3/ml	13 (15,7 %)	14 (16,9 %)
Säuglings- und Kleinkindernahrung (94)	0,3/g	31 (33,0 %)	17 (18,1 %)
Schnittkäse (76)	3/g	64 (84,2 %)	59 (77,6 %)
Weichkäse (103)	3/g	96 (93,2 %)	95 (92,2 %)

(Enterobacteriaceae: 1,4/g - Coliforme: 0,5/g) läßt sich außerdem ableiten, daß die erwähnten Differenzen in der Häufigkeit positiver Befunde auf niedrige MPN beschränkt sind und infolgedessen für die Beurteilung der hygienischen Wertigkeit von Säuglings- und Kleinkindernahrung praktisch ohne Bedeutung sind. WAES (1974) hatte im übrigen unter vergleichbaren Voraussetzungen bei 18 Milchpulverproben zwischen den Zahlen für Coliforme ($\bar{x}$: 3.75/g) und Enterobacteriaceae ($\bar{x}$: 4/g) ebenfalls keine signifikanten Unterschiede registriert. Bei der pasteurisierten Konsummilch waren bei den eigenen Untersuchungen weder hinsichtlich der Anzahl positiver Befunde (Tab. 36) noch hinsichtlich der MPN in den positiven Proben wesentliche Unterschiede zwischen Enterobacteriaceae und Coliformen zu beobachten. Infolgedessen wäre auch nur eine Probe zusätzlich zu beanstanden gewesen, wenn sich der - allerdings für die Abgabe aus der Molkerei laut Bayerischer Milchverordnung aufgestellte - Grenzwert (keine Coliformen in 0,1 ml) auf Enterobacteriaceae bezogen hätte. Ähnliches hatten zuvor BUSSE (1968) und WAES (1974) berichtet. BUSSE hatte dabei aufgrund der Beobachtung, daß beim Enterobacteriaceae-Nachweis mit EE-Broth nur eine Probe mehr zu maßregeln gewesen wäre als beim Coliformen-Nachweis mit BGLB, gefolgert, daß es gleichgültig sei, welches Verfahren zur Kontrolle der Konsummilch

benutzt werde. Die gute Übereinstimmung zwischen Enterobacteriaceae- und Coliformen-Nachweis dürfte darauf zurückzuführen sein, daß der weitaus größte Anteil der in pasteurisierter Konsummilch vorkommenden Enterobacteriaceae Gas aus Laktose bildet (nach KLEEBERGER (1979) 83 %) und somit beim Coliformen-Nachweis erfaßt wird.

Bei Schnittkäse und Weichkäse war zwar die Anzahl der Enterobacteriaceae-positiven bzw. Coliformen-positiven Proben ebenfalls etwa gleich (Tab. 36), doch lagen insbesondere bei den Weichkäsen teilweise erhebliche Unterschiede zwischen den entsprechenden MPN der einzelnen Proben vor. So übertrafen die Enterobacteriaceae-MPN die Coliformen-MPN bei Schnittkäse (Abb. 8) in 3 Fällen (3,9 %), bei Weichkäse (Abb. 10) in 19 Fällen (18,5 %) um mehr als einen dekadischen Logarithmus. Umgekehrte Verhältnisse wurden nur bei einem Weichkäse registriert. Infolgedessen wäre auch die Anzahl der Beanstandungen bei Weichkäse entsprechend dem kanadischen Standard (COLLINS-THOMPSON et al., 1977) deutlich angestiegen (insgesamt 77 statt 64), wenn bei unveränderten Grenzwerten für "M" anstelle des Coliformen-Nachweises der Enterobacteriaceae-Nachweis gefordert würde (Tab. 37). Da die Enterobacteriaceae-Zahlen i.a. höher als die Coliformen-Zahlen waren, differierten auch die geometrischen Mittelwerte für Enterobacteriaceae ($\bar{x}_g$: 80,8/g bei Schnittkäse bzw. $2,8 \times 10^4$ /g bei Weichkäse) und Coliforme ($\bar{x}_g$: 49,5/g bei Schnittkäse bzw. $7,5 \times 10^3$ /g bei Weichkäse), wobei sich die Mittelwerte bei Weichkäse signifikant unterscheiden ($p < 0,05$). Wenn aber die untersuchten Weichkäse in Produkte mit Schmiereflora und in Produkte mit Schimmelflora aufgegliedert wurden, ergab sich ein statistisch abzusichernder Unterschied nur bei den Weichkäsen mit Schmiereflora ($p < 0,01$). Dies läßt sich damit erklären, daß die Flora von handelsreifem Weichkäse mit Schmierebildung zu über 50 % aus Laktose-negativen *Proteus* spp. besteht (GRIEM, 1982), während bei Weichkäse mit Schimmel Laktose-positive Enterobacteriaceae dominieren (TOLLE et al., 1980; GRIEM, 1982). Da Coliforme bei Konsummilch, sowie Säuglings- und Kleinkindernahrung und in der Regel auch bei Schnittkäse (Ausnahmen nach GRIEM (1982): Tilsiter und andere Käse mit Schmiereflora) den dominierenden Anteil der Enterobacteriaceae-Flora darstellen, und die Unter-

Tabelle 37: Zahl der Beanstandungen wegen Überschreitung des Grenzwertes "M" im kanadischen Standard⁺⁾

Produkt (Anzahl der Proben)	Käse aus		
	pasteurisierter Milch Zahl (%) der Beanstandungen Enterobacteriaceae Coliforme	nicht pasteurisierter Milch Zahl (%) der Beanstandungen Enterobacteriaceae Coliforme	
Schnittkäse (76)	3 (5,5)	2 (3,6)	2 (9,5)
Weichkäse (103)	69 (72,6)	58 (61,1)	6 (75,0)

⁺⁾ s.Tab. 34

suchung auf die Gesamtheit der Enterobacteriaceae material- und arbeitsaufwendiger ist, erbringt der Nachweis der Gesamtheit der Enterobacteriaceae zumindest bei diesen Produkten in praxi keinen Vorteil gegenüber der klassischen Bestimmung der Coliformen. Ähnlich hatten sich auch BUSSE (1968) für pasteurisierte Konsummilch sowie WEBBER und HAMANN (1978) für Rohmilch geäußert. Etwas anders stellt sich die Situation jedoch bei den Weichkäsen dar, bei denen in etwa einem Fünftel der Proben die Enterobacteriaceae-MPN die Coliformen-MPN um mehr als einen dekadischen Logarithmus übertrafen. Dies kann dadurch bedingt sein, daß die Enterobacteriaceae-Flora nur zum kleineren Prozentsatz aus Coliformen bestand oder es sich bei dem Hauptanteil der Flora um anaerogene Coliforme bzw. Laktose-negative *E. coli* handelte, die beim Coliformen-Nachweis nicht erfaßt wurden. Hierauf war auch zurückzuführen, daß bei französischem Weichkäse, der Anfang der 70er Jahre eine durch *E. coli* bedingte Lebensmittelvergiftung in den USA auslöste (MARIER et al., 1973), einerseits nur 10^3 Coliforme/g, andererseits aber bis zu 10^7 Enterobacteriaceae/g gefunden worden sind (MOSSEL, 1974) bzw. über 3×10^7 EEC/g (FANTASIA et al., 1975). Auch bei den eigenen Untersuchungen wiesen fünf Weichkäseproben anaerogene Coliforme auf (Tab. 24), doch war deren Anteil relativ gering. Infolgedessen wäre bei Weichkäse - wie auch schon GRIEM (1982) andeutete - der Enterobacteriaceae-Nachweis sinnvoller als die klassische Bestimmung der Coliformen. Auch wenn ein genereller Ersatz des Coliformen-Nachweises bei Milch und Milchprodukten nicht unbedingt erforderlich zu sein scheint, sollte im Hinblick auf eine Vereinheitlichung der Untersuchungsmethoden bei weiteren Diskussionen jedoch ebenfalls berücksichtigt werden, daß die Bestimmung der Gesamtgruppe der Enterobacteriaceae in der Bundesrepublik bereits bei verschiedenen Lebensmitteln (z.B. Eiprodukte, Geflügelfleisch) eingeführt ist.

4.5 Einfluß einer Wiederbelebung auf Enterobacteriaceae-, Coliformen- und "Fäkalcoliformen"-Gehalte von Säuglings- und Kleinkindernahrungen

Es ist seit langem bekannt, daß in getrockneten Lebensmitteln Mikroorganismen vorhanden sein können, die auf Grund einer durch verschiedene Einflüsse (Übersichten bei BUSTA, 1976; MOSSEL und CORRY,

1977) hervorgerufenen subletalen Schädigung mit den gebräuchlichen Selektivmedien nicht nachgewiesen werden. Insbesondere bei der Untersuchung auf die Anwesenheit pathogener Mikroorganismen oder sogenannter Index-Keime sollte aber nach MOSSEL und RATTO (1970) stets versucht werden, auch diese Keime zu erfassen. Für die hierzu erforderliche Wiederbelebung ("Resuscitation") der geschädigten Keime bieten sich verschiedene Methoden (MOSSEL und CORRY, 1977) an, von denen diejenige im flüssigen Medium vor dem Nachweis mit dem konventionellen Selektivmedium besonders häufig zur Anwendung kommt. Bezüglich der Art und Zusammensetzung dieser Medien, der Dauer der Wiederbelebungsphase, der Inkubationstemperatur sowie der Frage einer Belüftung des Mediums bestehen dabei z.T. erhebliche Unterschiede (MOSSEL und VINCENTIE, 1968; MOSSEL und RATTO, 1970; MOSSEL und CORRY, 1977; ASPERGER und WINTERER, 1978; COOKE et al., 1982). Um zu prüfen, ob die Wiederbelebung bei den in die Untersuchungen einbezogenen 94 Säuglings- und Kleinkindernahrungen auf Trockenmilchbasis einen wesentlichen Einfluß auf die Ergebnisse hat, wurden die in 1/4 starker Ringer-Lösung rekonstituierten Proben nicht nur direkt auf die Anwesenheit von Enterobacteriaceae, Coliformen bzw. "Fäkalcoliformen" untersucht, sondern auch nach zweistündigem Stehenlassen der Anschüttelung bei Zimmertemperatur in Anlehnung an MOSSEL und RATTO (1970). Dabei zeigte sich, daß nach Wiederbelebung die Anzahl der positiven Proben ($\geq 0,3/g$) bei den Enterobacteriaceae (45 statt 31) und Coliformen (24 statt 17) deutlich höher war. Diese Resultate stimmen mit jenen von MOSSEL und RATTO (1970), ASPERGER und Winterer (1978) wie auch von COOKE et al. (1982) gut überein. Die Unterschiede zwischen den ohne bzw. mit Wiederbelebung erzielten Resultaten dürften darauf zurückzuführen sein, daß Inhaltsstoffe der EE-Broth (nach MOSSEL und VINCENTIE (1968) insbesondere das Brillantgrün) zwar das Wachstum der subletal geschädigten Enterobacteriaceae hemmen, nicht aber das der zuvor wiederbelebten Keime. Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei Enterobacteriaceae und Coliformen war bei "Fäkalcoliformen" nur ein geringer Effekt seitens der Wiederbelebung gegeben (zwei statt eines positiven Befundes). Ähnliches hatten auch ASPERGER und WINTERER (1978), COOKE et al. (1982) sowie LILIENTHAL (1985) beobachtet. COOKE et al. (1982) vermuten, daß dies dadurch be-

dingt ist, daß die "Fäkalcoliformen" weniger widerstandsfähig sind als die anderen Enterobacteriaceae und nicht in subletal geschädigtem Zustand überleben können.

5. Zusammenfassung

83 Proben pasteurisierter Konsummilch, 94 Säuglings- und Kleinkindernahrungen auf Trockenmilchbasis, 76 Schnittkäse sowie 103 Weichkäse wurden auf ihren Gehalt an Enterobacteriaceae, Coliformen und "Fäkalcoliformen" untersucht.

1. Der Nachweis von Enterobacteriaceae erfolgte in Anlehnung an die Vorschriften der Eiprodukte-Verordnung. In 13 (15,7 %) der Konsummilchproben bzw. in 31 (33 %) der Säuglings- und Kleinkindernahrungen wurden Enterobacteriaceae gefunden (Nachweisgrenze 0,3/ml bzw. g). Die maximalen wahrscheinlichsten Keimzahlen (MPN) beliefen sich auf 10^2 /ml (6 Proben) bzw. 10^2 /g (1 Probe). Bei der Untersuchung von Schnittkäse bzw. Weichkäse konnten in 64 (84,2 %) bzw. in 96 (93,2 %) der Proben zwischen 3/g (Nachweisgrenze) und 10^5 bzw. 10^7 Enterobacteriaceae/g ermittelt werden.
2. Die Untersuchung auf Coliforme erfolgte nach DIN 10 172, Teil 1. In 14 (16,9 %) der Konsummilchproben bzw. 17 (18,1 %) der Säuglings- und Kleinkindernahrungen wurden zwischen 0,3 und 10^2 Coliforme/ml bzw. g nachgewiesen. Eine Kleinkindernahrung (1,1 %) entsprach nicht den mikrobiologischen Anforderungen der Diätverordnung und wäre auch wegen Überschreitung des Grenzwertes "M" entsprechend den Empfehlungen der FAO/WHO zu beanstanden gewesen. 59 (77,6 %) der Schnittkäse bzw. 95 (92,2 %) der Weichkäse erbrachten Coliformen-Gehalte im Bereich von 3 und 10^5 bzw. 10^7 Keimen/g. Der im kanadischen Standard für Käse aufgeführte Grenzwert "M" wurde von 4 (5,3 %) der Schnittkäse bzw. 64 (62,1 %) der Weichkäse überschritten.
3. "Fäkalcoliforme" wurden entsprechend der von MACKENZIE et al. (1948) beschriebenen Methodik (Gas- bzw. Indolbildung bei 44 °C) nachgewiesen. Während in den pasteurisierten Konsummilchproben keine "Fäkalcoliformen" vorhanden waren, wurden in einer Kleinkindernahrung 10^2 "Fäkalcoliforme"/g gefunden. 31 (40,8 %) der Schnittkäse bzw. 72 (69,9 %) der Weichkäse enthielten "Fäkalcoliforme" im wahrscheinlichsten Keimzahlbereich von 3 bis 10^3 bzw. 10^5 /g. Den in den kanadischen Standards für Käse festgelegten Grenzwert "M" von <2000 /g überschritten 23 (22,3 %) der Weichkäse, aber kein Schnittkäse.

4. Weichkäse mit Schimmelflora wiesen im Mittel geringere Enterobacteriaceae-, Coliformen- und "Fäkalcoliformen"-Gehalte auf als Weichkäse mit Schmiereflora, doch ließ sich der Unterschied nur bezüglich der Enterobacteriaceae statistisch absichern ($p < 0,01$). In den Weichkäsen inländischer Produktion wurden Enterobacteriaceae, Coliforme und "Fäkalcoliforme" häufiger und in höheren Zahlen als in Weichkäse ausländischer Produktionen gefunden; die geometrischen Mittelwerte unterschieden sich signifikant ($p < 0,001$ für Enterobacteriaceae und Coliforme; $p < 0,05$ für "Fäkalcoliforme").
5. Säuglings- und Kleinkindernahrungen enthielten zwar häufiger Enterobacteriaceae als Coliforme, doch handelte es sich dabei fast nur um für die Praxis wenig relevante MPN von $\leq 0,9/g$. Bei Konsummilch und Schnittkäse bestanden keine wesentlichen Unterschiede im Vorkommen von Enterobacteriaceae und Coliformen, bei Weichkäse war der durchschnittliche Enterobacteriaceae-Gehalt signifikant höher als der mittlere Coliformen-Gehalt ($p < 0,05$).
6. Die bei der Untersuchung von Säuglings- und Kleinkindernahrung zusätzlich eingeschaltete Wiederbelebungsphase (MOSSEL und RATTO, 1970) erbrachte zwar eine deutliche Zunahme der positiven Befunde, doch war eine Steigerung des Enterobacteriaceae und "Fäkalcoliformen"- bzw. des Coliformen-Gehaltes um mehr als einen dekadischen Logarithmus nur bei einer (1,1 %) bzw. 10 (10,6 %) der Proben zu registrieren.

Summary

Occurrence of Enterobacteriaceae in milk and milk products with special regard to coliforms and "faecal coliforms".

83 samples of pasteurized milk, 94 milk-containing powdered baby and infant formulas, 76 semi-hard cheeses, and 103 soft cheeses were examined for the presence of Enterobacteriaceae, coliforms and "faecal coliforms".

1. The detection of Enterobacteriaceae followed the method described in the Eiprodukte-Verordnung. Enterobacteriaceae were found in 13 (15.7%) of the milk samples and in 31 (33%) of the baby and infant formulas (limit of detection: 0.3 organisms/ml and g, respectively); the maxima of the most probable number (MPN) amounted to 10^2 /ml (6 samples) and 10^2 /g (one sample). Examining the semi-hard cheeses and the soft cheeses between 3 (limit of detection) and 10^5 and 10^7 Enterobacteriaceae/g could be detected in 64 (84.2%) and 96 (93.2%) of the samples, respectively.
2. Coliforms were determined using DIN 10 172, part 1. Between 0.3 and 10^2 coliforms/ml and g, respectively, were found in 14 (16.9%) of the milk samples and in 17 (18.1%) of the baby and infant formulas. One infant formula (1,1%) didn't meet the microbiological limit of the Diät-Verordnung and would also have been rejected on account of exceeding the value of "M" recommended by the FAO/WHO. 59 (77.6%) of the semi-hard cheeses and 95 (92.2%) of the soft cheeses showed coliform MPN raging from 3 to 10^5 and 10^7 /g, respectively. The value of "M" given in the Canadian microbiological standard for cheese was exceeded by 4 (5.3%) of the semihard cheeses and 64 (62.1%) of the soft cheeses.
3. The determination of "faecal coliforms" was done according to the MACKENZIE-TAYLOR-GILBERT-test (formation of gas from lactose of indole, both at 44°C. While no "faecal coliforms"

were present in the pasteurized milk samples, in one infant formula 10^2 "faecal coliforms"/g could be found. 31 (40.8%) of the semi-hard cheeses and 72 (69.9%) of the soft cheeses contained "faecal coliforms" in the range from 3 to 10^3 and 10^5 /g, respectively. 23 (22.3%) of the soft cheeses, but not a single semi-hard cheese exceeded the value of "M" (<2000 /g) laid down in the Canadian microbiological standard for cheese.

4. Soft cheeses with mould surface showed lower average Enterobacteriaceae, coliform and "faecal coliform" MPN than soft cheeses with smeary surface, the difference, however, was only significant in the case of the Enterobacteriaceae ($p < 0.01$). In German soft cheeses Enterobacteriaceae, coliforms and "faecal coliforms" were found more often and in higher numbers than in soft cheeses from foreign producers; the geometric means of Enterobacteriaceae and coliforms ($p < 0.001$) as well as of "faecal coliforms" ($p < 0.05$) differed significantly.
5. Although baby and infant formulas contained Enterobacteriaceae more often than coliforms, the Enterobacteriaceae MPN were, however, almost exclusively smaller than or equal to 0.9/g, which is not very relevant in practice. While no essential differences did exist in the occurrence of Enterobacteriaceae and coliforms in pasteurized milk and semi-hard cheese, the average MPN of Enterobacteriaceae in soft cheese was significantly higher than that of coliforms ($p < 0.05$).
6. Including a resuscitation step (MOSSEL and RATTO, 1970) the examination of baby and infant formulas resulted in a considerable increase of the positive results, but only in one (1.1%) sample and in 10 (10.6%) samples, respectively, a rise of the Enterobacteriaceae as well as of the "faecal coliform" MPN and of the coliform MPN, respectively, for more than one log could be registered.

6. Literaturverzeichnis

ABD-EL-MALEK, Y. und T. GIBSON (1952):

Studies in the bacteriology of milk.

IV. The gram-negative rods of milk.

J. Dairy Res. 19, 294 - 301

ABO-ELNAGA, I. G. (1966):

Der Einfluß der Hitzebehandlung auf den Bakteriengehalt der Milch.

Milchwiss. 21, 561 - 564

ABO-ELNAGA, I. G. und O. KANDLER (1965):

Zur Kenntnis der Mikroflora der Melkmaschinen.

Milchwiss. 20, 660 - 662

ABRAHAMSSON, K. und R. FONDÉN (1978):

Lagringstemperaturens inverkan på mjölkens hållbarhet.

Nordisk Mejeriindustri 5, 6- 7.

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 40 (1978), Nr. 2603

ADAMS, A. D., J. T. BARACH und M. L. SPECK (1975):

Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin.

J. Dairy Sci. 58, 828 - 834

ADEMOLLO, B., A. BELLI und G. MASINI (1974):

Microbiology of pasteurized milk stored for various periods.

Igiene Moderna 67, 313 - 321

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 37 (1975), Nr. 7207

ANDERSON J. M. und A. C. BAIRD-PARKER (1975):

A rapid and direct plate method for enumerating Escherichia coli biotype I in food.

J. appl. Bact. 39, 111 - 117

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA - (1972):
Standard methods for the examination of dairy products.
13th ed., p. 88 - 99
American Public Health Association, Washington, D.C.

ARCHAMBAULT, J. (1954):
Coliform densities in pasteurized dairy products.
J. Milk Food Technol. 17, 342 - 346

ASPERGER, H. (1979):
Zur Beurteilung des Coliformen-Gehaltes als mikrobiologisches Kriterium für kühlgelagerte Trinkmilch.
Milchw. Ber., Folge 58, 43 - 45

ASPERGER, H. und H. WINTERER (1978):
Beitrag zur Methodik der Wiederbelebung beim Nachweis subletal geschädigter Enterobacteriaceae in Milchpulver.
Wiener Tierärztl. Mschr. 65, 241 - 246

ASPERGER, H., E. BRANDL und A. MAGGI (1983):
Über den Einfluß von Produktionshygiene, Transport- und Lagerungsbedingungen auf die sensorische und mikrobiologische Beschaffenheit von Mozzarella-Käse.
Arch. Lebensmittelhyg. 34, 14 - 24

AUSTIN, B., D. HUSSONG, R. M. WEINER und R. R. COLWELL (1981):
Numerical taxonomy analysis of bacteria isolated from the completed 'most probable numbers' test for coliform bacilli.
J. appl. Bact. 51, 101 - 112

BALAJIAH, V. und V. K. JOSHI (1980):
Effect of starter cultures on flavour characteristics and changes in the level of soluble protein content during ripening of Gouda cheese.
Indian J. Dairy Sci. 33, 390 - 392
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 44 (1982), Nr. 3071

BATTISTOTTI, B., V. BOTTAZZI und G. VOLA (1976):
Microbiological and chemical characteristics of Fontina
cheese.

Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia 27, 29 - 45
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 39 (1977), Nr. 951

BECK, G. und T. MANTEL (1974):

Zur mikrobiologischen Untersuchung von Weichkäse.

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft,

16. Arbeitstagung; Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene,
Garmisch-Partenkirchen, p. 65 - 69

BECKER, F. (1979):

Ursachen von Käseblähungen in Schnittkäse und Möglich-
keiten zu deren Verhinderung.

Jahres-Broschüre 1979, Landesverband Bayerischer Molkerei-
fachleute und Milchwirtschaftler, p. 119 - 127

ref. in: Milchwiss. 35 (1980), 53

BECKER, H. und G. TERPLAN (1985):

Salmonellen in Milch und Milchprodukten.

im Druck (Zbl. Vet. Med.).

BIGALKE, B. (1980):

Proper line sampling can identify post pasteurization
contamination.

Am. Dairy Review 42, 32 - 34

BLÜMEL, B. (1975):

Unspezifische Lebensmittelvergiftung durch Camembert -
Aspekte der mikrobiologischen Untersuchung innerhalb der
amtlichen Lebensmittelüberwachung.

Arch. Lebensmittelhyg. 26, 61 - 65

BONTEMPS, M. und C. SIMON (1965):

Über den Keimgehalt von pulverisierten Fertignahrungen
für Säuglinge.

Milchwiss. 20, 508 - 509

BRANDL, E. (1976):

Zur Frage der hygienischen Beurteilung von Lebensmitteln
auf Grund mikrobiologischer Endproduktspezifikationen.

Milchw. Ber., Folge 49, 255 - 259

DERSELBE (1979):

Aspekte mikrobiologischer Grenzwerte für Käse.

Dtsch. Milchwirtschaft 30, 373 - 379

DERSELBE (1984):

Aktuelle mikrobiologisch-hygienische Aufgabenstellungen
auf dem Gebiet der Käseproduktion.

Milchw. Ber., Folge 78, 19 - 24

BRANDL, E., H. ASPERGER und R. PFLEGER (1978):

Über die heterogene Verteilung coliformer Keime in pack-
reifem Camembertkäse.

20. Int. Milchwirtschaftskongreß, Paris, p. 837 - 838

BRENNER, D. J. (1984):

Enterobacteriaceae.

in: Bergey's manual of systematic bacteriology, 9th ed.

Vol. 1, p. 408 - 516

Williams and Wilkins, Baltimore, London.

BRYAN; F. L. (1983):

Epidemiology of milk-borne diseases.

J. Food Prot. 46, 637 - 649

BUCHBINDER, L. und E. C. ALFF (1947):

Studies on coliform organisms in dairy products, the practical significance of so-called heat resistant coliform organisms in the coliform testing of pasteurized milk.
J. Milk Food Technol. 1, 137 - 148

BULLING, E. (1959):

Bakteriologische Untersuchungen an Säuglings- und Kindermilchpräparaten.

Z. Kinderheilk. 82, 113

BUSSE, M. (1965):

Milchkühlung und Bakterienflora.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 86, 1777 - 1781

DERSELBE (1966):

Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung der bakteriologischen Qualität kühlgelagerter Milch.

Milchwiss. 21, 289 - 293

DERSELBE (1967):

Über die Eignung der verschiedenen Medien zur Colibestimmung bei Milch und Milchprodukten.

Zbl. Bakt. Hyg., 1. Abt., Supplementheft 2, 178 - 183

DERSELBE (1968):

Der Enterobakterien-Nachweis bei der Überwachung von Trinkmilch.

Milchwiss. 23, 414 - 418

DERSELBE (1980):

Coliforme Keime in Käse.

Wissenschaftlicher Jahresbericht über die Tätigkeit der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Weihenstephan - Technische Universität München, 23, 81 - 83

DERSELBE (1983):

Coliforme in Weichkäse.

Wissenschaftlicher Jahresbericht über die Tätigkeit der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Weißenstephan - Technische Universität München, 26, 75 - 77

BUSTA, F. F. (1976):

Practical implications of injured microorganisms in food. J. Milk Food Technol. 39, 138 - 145

CHOPIN, A., G. MOCQUOT und Y. LE GREAT (1977):

Destruction de Microbacterium lacticum, Escherichia coli et Staphylococcus aureus au cours du séchage du lait par atomisation. II. Influence des conditions de séchage.

Can. J. Microbiol. 23, 755 - 762

ref. in: Milchwiss. 33 (1978), 331

CHORDASH, R. A. und N. F. INSALATA (1978):

Incidence and pathological significance of Escherichia coli and other sanitary indicator organisms in food and water.

Food Technol. 32 (10), 54 - 63

CHRISTIAN, J. H. B. (1983):

Microbiological criteria for foods summary of recommendations of FAO/WHO expert consultations and working groups 1975 - 1981.

World Health Organization, Genf, VPH/83.54

CIBLIS, E. (1965):

Einfluß verschiedener Faktoren auf die bakteriologische Beschaffenheit und Haltbarkeit von pasteurisierter Milch.

Milchwiss. 20, 123 - 132

CIBLIS, E. und G. SCHWARZ (1962):

Beschaffenheit und Haltbarkeit von aus Magermilchpulver
und frischem Schlagrahm rekonstruierter Milch.

Milchwiss. 17, 621 - 624

COCHRAN, W. G. (1950):

Estimation of bacterial densities by means of the 'most
probable number'.

in: HARRIGAN, W. F. und M. E. McCance (1976):

Laboratory methods in food and dairy microbiology, p. 386

Academic Press, London - New York - San Francisco

COGHILL, D. M., I. D. MUTZELBURG und S. J. BIRCH (1982):

Effect of thermization on bacteriological and chemical
quality of milk.

Aust. J. Dairy Technol. 37, 48 - 50

COLLINS, R. N., M. D. TREGER, J. B. GOLDSBY, J. R. BORING,
D. B. COTTON und R. N. BARR (1968):

Interstate outbreak of Salmonella newbrunswick infection
traced to powdered milk.

J. Am. Med. Assoc. 203, 838 - 844

COLLINS-THOMPSON, D. L., I. E. ERDMAN, M. E. MILLING,

D. M. BURGNER, U. T. PURVIS, A. LOIT und R. M. COULTER
(1977):

Microbiological standards for cheese: Survey and viewpoint
of the Canadian Health Protection Branch.

J. Food Prot. 40, 411 - 414

COLLINS-THOMPSON, D. L., K. F. WEISS, G. W. RIEDEL und
S. CHARBONNEAU (1980):

Microbiological guidelines and sampling plans for dried
infant cereals and powdered infant formula from a Canadian
national microbiological survey.

J. Food Prot. 43, 613 - 116

COOKE, B. C., B. R. JOSEPHSON und L. M. NORRIS (1982):
An evaluation of resuscitation modifications to the standard presumptive coliform analysis for the recovery of coliforms and E. coli from dairy products.

Aust. J. Dairy Technol. 37, 149 - 150

COUSIN, M. A. (1982):

Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review.

J. Food Prot. 45, 172 - 207

DAHLBERG, A. C. (1964):

The relationship of the growth of all bacteria and coliform bacteria in pasteurized milk held at refrigeration temperatures.

J. Dairy Sci. 29, 651 - 655

DALY, C., W. E. SANDINE und P. R. ELLIKER (1972):

Interactions of food starter cultures and food-borne pathogens: Streptococcus diacetylactis versus food pathogens.

J. Milk Food Technol. 35, 349 - 357

DANILENKO, I. P. (1977):

Isolation of coliforms from milk and milking equipment and their use as hygiene indicators.

Trudy, Vsesoyuznyĭ Nauchno-issledovatel'skiĭ Institut Veterinarnoĭ Sanitarii 58, 8 - 13

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 42 (1980), Nr. 6659

DILGER, G. (1981):

Erfahrungen in der Schnittkäserei in der Bundesrepublik Deutschland aus der Sicht der Praxis.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 102, 328 - 334

DOWNEY, W. K. (1980):

Review of the progress of dairy science:

Flavour impairment from pre- and post-manufacture
lipolysis in milk and dairy products.

J. Dairy Res. 47, 237 - 252

DREWS, M., A.: GRASSHOFF, H. HAGEMEISTER, W. HEESCHEN,
M. PFEUFFER, H. REUTER, G. SUHREN, J. THOMASOW, A. TOLLE
und H. WIETBRAUK (1983):

Aktuelle Fragen zur pasteurisierten Konsummilch.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 35, 107 - 236

DRION, E. F. und D. A. A. MOSSEL (1972):

Mathematical-ecological aspects of examination for Enterobacteriaceae of foods processed for safety.

J. appl. Bact. 35, 233 - 239

DIESELBEN (1977):

The reliability of the examination of foods, processed for
safety, for enteric pathogens and Enterobacteriaceae:

A mathematical and ecological study.

J. Hyg. Camb. 78, 301 - 324

DRUCE, R. G. und S. B. THOMAS (1972):

Bacteriological studies on bulk milk collection: Pipeline
milking plants and bulk milk tanks as sources of bacterial
contamination of milk - a review.

J. appl. Bact. 35, 253 - 270

EDDY, B. P. (1960):

The use and meaning of the term "psychrophilic".

J. appl. Bact. 23, 189 - 190

EDWARDS, P. R. und W. H. EWING (1972):

Identification of Enterobacteriaceae.

Burgess Publishing Company, Minneapolis

ELLIOTT, J. A. (1978):

Microbial standards for cheese: The Canadian approach.
J. Dairy Sci. 61, 1192 - 1195

ERDMANN, I. E. (1984):

Persönliche Mitteilung

ref. in: BRODSKY, M. H. (1984):

Bacteriological survey of freshly formed Cheddar cheese.

J. Food Prot. 47, 546 - 548

FANTASIA, L. D., L. MESTRANDREA, J. P. SCHRADE und

J. YAGER (1975):

Detection and growth of enteropathogenic *Escherichia coli*
in soft ripened cheese.

Appl. Microbiol. 29, 179 - 185

FISHBEIN, M. (1962)

The aerogenic response of *Escherichia coli* and strains
of *Aerobacter* in EC broth and selected sugar broths at
elevated temperatures.

Appl. Microbiol. 10, 79 - 85

FONDÉN, R. (1971):

Coliform bacteria as indicator organisms in pasteurized
foods.

I. Growth during cold storage.

Svenska Mejeritidn 63, 229 - 230, 232

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 33 (1971), Nr. 5243

FRANK, J. F. und E. H. MARTH (1978):

Survey of soft and semisoft cheese for presence of fecal
coliforms and serotypes of enteropathogenic *Escherichia coli*.

J. Food Prot. 41, 198 - 200

FRANK, J. F., E. H. MARTH und N. F. OLSON (1977):

Survival of enteropathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli*
during the manufacture of Camembert cheese.

J. Food Prot. 40, 835 - 842

FRANKE, V. (1982):

Zur Identifizierung von Enterotoxin-bildenden E. coli-Stämmen aus Milch und Milchprodukten.

Diss. med. vet. München

FRANKE, V. und S. LINGEN (1983):

Zum Vorkommen von pathogenen Enterobacteriaceae in Camembert.

Arbeitstagung der Deutschen Gesellschaft für Milchwissenschaft, Freising-Weißenstephan, mini-report

FROMM, G. und U. STRAHTMANN (1970):

Keimgehalte von Säuglings- und Kleinkindernahrungen, Stärkungsmitteln und Tiefkühlgemüsen - eine Vergleichsuntersuchung.

Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 66, 1 - 6

FRYER, T. F. (1974):

Die Kontrolle coliformer Bakterien in Gouda Käse.

19. Int. Milchwirtschaftskongreß, Neu Dehli, 1D, 601 - 602

DIESELBE (1975):

The control of coliform organisms in Gouda cheese.

New Zealand J. Dairy Sci. Technol. 10, 8 - 10

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 38 (1976), Nr. 426

GALESLOOT, T. E. und J. G. STADHOUDERS (1968):

The microbiology of spray dried milk with special reference to Staphylococcus aureus and Salmonellae.

Proceedings of the Sixth International Symposium on Food Microbiology, Bilthoven, the Netherlands, p. 813 - 340

GALLMANN, P. (1982):

Einfluß der Milchpasteurisierung auf die Käsequalität am Beispiel von Raclette aus pasteurisierter und roher Milch.

Milchw. Ber., Folge 73, 301 - 306

GALLMANN, P. und Z. PUHAN (1983):

Vergleichende Untersuchungen zur Herstellung von Raclette-Käse aus roher und pasteurisierter Milch.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 104, 590 - 599

v. GAVEL, L. (1960):

Die Pasteurisation als Selektion hitzeresistenter Bakterien.

Milchwiss. 15, 227 - 233

GEIGY, J. R. (1960):

Documenta Geigy - wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage, Basel

GIFFEY, H. J. (1963):

Ein Beitrag zur hygienischen Beschaffenheit der im Raume Mecklenburg hergestellten Trockenmilchen.

Diss. med. vet. Berlin

GILLILAND, S. E. und M. L. SPECK (1972):

Interactions of food starter cultures and food borne pathogens: Lactic Streptococci versus Staphylococci and Salmonellae.

J. Milk Food Technol. 35, 307 - 310

GINZINGER, W. (1979):

Zur Keimverteilung im Käse.

Milchw. Ber., Folge 58, 53 - 58

DERSELBE (1981):

Zum Einfluß der Rohmilchkeime auf Milchprodukte.

Milchw. Ber., Folge 71, 89 - 94

GINZINGER, W. und F. OSL (1983):

Mikrobiologische und biochemische Vorgänge bei Schnittkäse.

Milchw. Ber., Folge 76, 243 - 245

GLATZ, B. A. und S. A. BRUDVIG (1980):
Survey of commercially available cheese for enterotoxigenic
Escherichia coli.

J. Food Prot. 43, 395 - 398

GLÄTTLI, H. (1982):

Relationship between the bacteriological quality of raw
milk and that of final products: semi-hard cheese.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 34, 164 - 170

GRABOW, W. O. K., C. A. HILNER und P. COUBROUTH (1981):
Evaluation of standard and modified M-FC, MacConkey and
Teepol media for membrane filtration counting of fecal
coliforms in water.

Appl. Environ. Microbiol. 42, 192 - 199

GRASSHOFF, A. (1982):

Technologische Möglichkeiten der Rekontaminationsver-
hinderung.

Milchw. Ber., Folge 71, 149

GRIEM, E. (1982):

Die Enterobakterienflora von Käse.

Diss. oec. troph., Technische Universität München

HALL, G. W. und T. I. HEDRICK (1971):

Drying of milk and milk products,

p. 148 - 152, 181 - 182

AVI Publ., Westport, Connecticut

HALL, H. E., D. F. BROWN, H. M. ROBINSON, C. B. DONELLY
und A. L. REYES (1967):

Bacteriological examination of Grade A dry milk powder.

J. Milk Food Technol. 30, 219 - 221

HANGST, E. und H. GLAESER (1984):

Enterobacteriaceae in Weichkäse.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 105, 244 - 248

HEESCHEN, W., G. SUHREN und A. TOLLE (1981):

Bakteriologisch-biochemische Kriterien der Milch und ihre Beziehungen zu Frische, Haltbarkeit und Qualität.

Dtsch. Milchwirtschaft 32, 1660 - 1664, 1682 - 1684

HEIDRICH, H. J. und W. RENK (1963):

Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren, p. 289 - 304

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

HEIDRICH, H. J., D. GROSSKLAUS und M. MÜLLING (1964a):

Vergleichende bakteriologische Untersuchungen an durch Handmelken und durch Venülenpunktion der Drüsenzisterne gewonnenen Milchen; I. Untersuchungen an Venülenmilchen.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 77, 83 - 84

HEIDRICH, H. J., M. MÜLLING und H. W. BIRKNER (1964b):

Vergleichende bakteriologischen Untersuchungen an durch Handmelken und durch Venülenpunktion der Drüsenzisterne gewonnenen Milchen; II. Vergleichende Untersuchungen an Handmelk- und Venülenmilchen.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 77, 85 - 86

HORVÁTH, I., I. HANNY und A. PETHES (1964):

Massenaufreten von Lebensmittelvergiftungen, verursacht durch Bakterien der Gruppe Klebsiella.

Zbl. Bakt. Hyg., 1. Abt. Orig. 193, 191 - 195

HOSKINS, J. K. (1933):

The most probable number of E. coli in water analysis.

J. Amer. water works Assoc. 25, 867 - 877

zit. nach: MAYOU, J. (1976):

MPN - most probable number, in: SPECK, M. L. (Hrsg.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods, p. 152 - 162

Am. Pub. Hlth. Assoc., Washington D. C.

HOSTETTLER, H. (1968):

Milcherzeugnisse ohne Butter und Käse. III. Trockenmilch;
in: SCHÖRMÜLLER, J. (Hrsg.): Handbuch der Lebensmittel-
chemie, III/1: Tierische Lebensmittel Milch, Butter,
Käse, p. 389 - 406
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS
FOR FOODS - ICMSF - (1974):

Microorganisms in foods, Vol. II.

Sampling plans for dried foods, p. 110 - 118

University of Toronto Press, Toronto and Buffalo

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS
FOR FOODS - ICMSF - (1978):

Microorganisms in foods, Vol. I.

Significance of microorganisms and their toxins in
foods, p. 20 - 22

University of Toronto Press, Toronto and Buffalo

INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND - INTERNATIONAL
DAIRY FEDERATION (1976):

Control of water and waste water in the dairy industry.

Ann. Bull. Document, Nr. 90

ref. in: TERPLAN, G. (1980)

INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND - INTERNATIONAL
DAIRY FEDERATION - GROUP D 14 (1985):

Hygienic requirements in standards of identity

Meeting on 16.1.1985, Brüssel

ISO/DIS 4831 (International organization for Standardization/
Draft International Standard) (1976):

Microbiology - General guidance for enumeration of coliforms -
Most probable number technique.

ISO/DIS 7251 (International Organization for Standardization /Draft International Standard) (1983):

Microbiology - General guidance for enumeration of presumptive *Escherichia coli*.

ISO/DIS 5541/2 (International Organization for Standardization /Draft International Standard) (1984):

Milk and milk products - Enumeration of coliforms - Part 2: Most probable number technique at 30 °C

JONES, G. A., D. L. GIBSON und K. J. CHENG (1967):

Coliform bacteria in Canadian pasteurized dairy products.

Can. J. publ. Hlth. 58, 257 - 264

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 29 (1967), Nr. 4429

KAMMERLEHNER, J. (1970):

pH-Wert-Kennzahlen in den einzelnen Produktionsabschnitten beim Schnittkäse.

Dtsch. Milchwirtschaft 21, 2245 - 2246

KAMMERLEHNER, J. und H. G. KESSLER (1983):

Die Einflüsse der Temperatur auf die Haltbarkeit von Camembert.

Dtsch. Milchwirtschaft 34, 41 - 48

KÄSTLI, P. (1957):

Der Einfluß der Milcherhitzung auf die Lebensfähigkeit von pathogenen Keimen und auf die Wirksamkeit ihrer Toxine.

Milchwiss. 12, 202 - 210

DERSELBE (1963):

Milchkunde und Milchhygiene. II. Teil: Milchfehler, p. 92 - 93

Buchverlag Verbandsdruckerei AG., Bern

KIELWEIN, G. (1977):

Zur Zusammensetzung der aeroben gramnegativen Flora von Anlieferungsmilch und deren Beziehung zu Milchprodukten.

Alimenta 16, 41 - 48

KIELWEIN, G., H. MELLING und B. HORSCH (1978):

Einiges zur Haltbarkeit wärmebehandelter Milch.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 99, 420 - 425

KISHONTI, E. und G. SJÖSTRÖM (1970):

Der Einfluß der hitzeresistenten Lipasen und Proteasen psychrotropher Bakterien auf die Produkt-Qualität.

18. Int. Milchwirtschaftskongreß, Sidney, 1 D, 509

KLEEBERGER, A. (1979):

Enterobakterien in pasteurisierter Milch.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 100, 1794 - 1796

KLEEBERGER, A., R. BRAATZ und M. BUSSE (1980):

Zur Taxonomie und Ökologie der Enterobakterien in Milch.

Milchwiss. 35, 457 - 460

KLIMA, H. (1973):

Vergleichende bakteriologische Untersuchungen an Trinkmilchproben aus Südhessen.

Arch. Lebensmittelhyg. 24, 25 - 27

KLIPSTEIN, F. A., R. F. ENGERT und H. B. SHORT (1977):

Relative enterotoxigenicity of coliform bacteria.

J. infect. Dis. 136, 205 - 215

KÖNNING, B. (1972):

Erhebungen zum Vorkommen einiger hygienisch und gesundheitlich bedenklicher Keime in Trockenmilchprodukten.

Diss. med. vet. Hannover

KORNACKI, J. L. und E. H. MARTH (1982):

Foodborne illness caused by *Escherichia coli*: A review.
J. Food Prot. 45, 1051 - 1067

KRAMPE, F. (1972):

Erhebungen zur mikrobiologischen Beschaffenheit von
Trockenmilchprodukten.

Diss. med. vet. Hannover

KURMANN, J. (1958):

Zur Methodik der quantitativen bakteriologischen Käse-
untersuchung.

Milchwiss. 13, 174 - 177

KURZWELL, R. und M. BUSSE (1973):

Keimgehalt und Florazusammensetzung der frischermolkenen Milch.

Milchwiss. 28, 427 - 431

LANGEVELD, L. P. M. und F. CUPERUS (1980):

The relation between temperature and growth rate in
pasteurized milk of different types of bacteria which are
important to the deterioration of that milk.

Neth. Milk Dairy J. 34, 106 - 125

LAW, B. A., M. E. SHARPE und H. R. CHAPMAN (1976):

The effect of lipolytic gram-negative psychrotrophs in
stored milk on the development of rancidity in Cheddar cheese.

J. Dairy Res. 43, 459 - 468

LI CARI, J. J. und N. N. POTTER (1970):

Salmonella survival during spray-drying and subsequent
handling of skim-milk powder.

II. Effects of drying conditions.

J. Dairy Sci. 53, 871 - 876

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 33 (1971), 413

LILIENTHAL, W. (1985):

Vergleich von MPN- und Membran-Technik beim Nachweis von "Fäkalcoliformen" in Milch und Milchprodukten.

Diss. med. vet. München

LIMMER, H. D. (1979a):

Garantiedaten und Rekontamination.

Welt der Milch 33, 962 - 967

DERSELBE (1979b)

Ursachen der Rekontamination und deren Verhinderung.

Welt der Milch 33, 993 - 994

LÜBENAU-NESTLE, R. und H. MAIR-WALDBURG (1968):

Eigenschaften der Käse. III. Bakteriologie der Käse.

in: SCHORMÜLLER, J. (Hrsg.): Handbuch der Lebensmittelchemie, III/1: Tierische Lebensmittel Milch, Butter, Käse, p. 643 - 687

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

LÜCK, H. und M. DUNKELD (1981):

Enterobacteriaceae in cheese.

South African J. Dairy Technol. 13, 9 - 14

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 44 (1982), Nr. 343

MACE, D. (1988):

L'analyses bactériologique de l'eau.

Annales de Hygiène Publique 6, 501 - 528

MACIEJESKA-ROCZAN, K. und H. BURZYNSKA (1980):

Proba zastosowania oznaczania bakterii rodziny Enterobacteriaceae de oceny produktów mleczarskich.

Rozniki Państwowego Zakładu Higieny 31, 193 - 197

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 44 (1982), Nr. 961

MACKENZIE, E. F. W., E. W. TAYLOR und W. E. GILBERT (1948):

Recent experiences in the rapid identification of *Bacterium coli* type I.

J. Gen. Microbiol. 2, 197 - 204

MAIR-WALDBURG, H. (1968):

Käseherstellung (I - III).

in SCHORMÜLLER, J. (Hrsg.): Handbuch der Lebensmittel-
chemie, III/1: Teirische Lebensmittel Milch, Butter,
Käse, p. 534 - 574

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

DERSELBE (1974):

Handbuch der Käse, Käse der Welt von A - Z.

Eine Enzyklopädie.

Volkswirtschaftlicher Verlag, Kempten/Allgäu

MARIER, R., J. G. WELLS, R. C. SWANSON, W. CALLAHAN und
I. J. MEHLMAN (1973):

An outbreak of enteropathogenic Escherichia coli food-
borne disease traced to imported French cheese.

Lancet 2, 1376 - 1378

MARSHALL, B. J., G. G. COOTE und W. J. SCOTT (1974):

zit. nach UZELAC, G. und B. STILLE (1977):

Die Überlebensfähigkeit von Bakterien fäkalen Ursprungs
in Trockenmilchprodukten in Abhängigkeit von der Wasser-
aktivität.

Dtsch. Lebensmittel-Rundschau 73, 325 - 329

MARTH, E. H. (1969):

Samonellae and salmonellosis associated with milk and
milk products. A review.

J. Dairy Sci. 52, 283 - 315

MCCRADY, M. H. und E. J. LANGEVIN (1932):

The coli-aerogenes determination in pasteurization control.

J. Dairy Sci. 15, 321 - 329

MEHLMAN, I. J. und A. ROMERO (1982):

Enteropathogenic Escherichia coli: Methods for recovery
from foods.

Food Technol. 36 (3), 73 - 79

MILLER, D. L., J. M. GOEPFERT und C. H. AMUNDSON (1972):
Survival of salmonellae and Escherichia coli during the
spray drying of various food products.

J. Food Sci. 37, 828 - 831

MOSELEY, W. K. (1980):

Pinpointing post-pasteurization contamination.

J. Food Prot. 43, 414

MOSSEL, D. A. A. (1957):

The presumptive enumeration of lactose negative as well
as lactose positive Enterobacteriaceae in foods.

Appl. Microbiol. 5, 379 - 381

DERSELBE (1964):

Eine mit dem Salmonellen-Nachweis kommensurable Unter-
suchung von Lebens- und Futtermitteln auf Enterobacteriaceae.

Arch. Lebensmittelhyg. 15, 169 - 171

DERSELBE (1967):

Ecological principles and methodological aspects of the
examination of food and feeds for indicator microorganisms.

J. Ass. off. analyt. Chem. 50, 90 - 104

DERSELBE (1977):

Microbiology of foods.

Occurrence prevention and monitoring of hazards and deterio-
ration.

University of Utrecht, Faculty of Veterinary Medicine

DERSELBE (1974):

Bacteriological safety of foods.

Lancet 2, 173

DERSELBE (1981):

Coliform tests for cheeses and other foods.

Lancet 2, 1174 - 1175, 1425

DERSELBE (1982):

Marker (index and indicator) organisms in food and drinking water. Semantics, ecology, taxonomy and enumeration.

Antonie v. Leeuwenhoek 48, 609 - 612

MOSSEL, D. A. A. und J. E. L. CORRY (1977):

Detection and enumeration of sublethally injured pathogenic and index bacteria in foods and water processed for safety.

Alimenta - Sonderausgabe 1977, 19 - 34

MOSSEL, D. A. A. und M. A. RATTO (1970):

Rapid detection of sublethally impaired cells of Enterobacteriaceae in dried foods.

Appl. Microbiol. 20, 273 - 275

MOSSEL, D. A. A. und H. M. VICENTIE (1969):

Ecological studies on the enrichment of Enterobacteriaceae occurring in dried foods in some currently used media.

in: KAMPELMACHER, E. H., M. INGRAM und D. A. A. MOSSEL: The microbiology of dried foods.

Proceedings of the Sixth International Symposium on Food Microbiology, Bilthoven, the Netherlands, p. 135 - 164

MOSSEL, D. A. A. und H. ZWART (1960):

The rapid tentative recognition of psychrotrophic types among Enterobacteriaceae isolated from foods.

J. appl. Bact. 23, 185 - 188

MOSSEL, D. A. A., P. G. H. BIJKER und I. EELDERINK (1978):
Streptokokken der Lancefield-Gruppe D in Lebensmitteln
und Trinkwasser - ihre Bedeutung, Erfassung und Bekämpfung.
Arch. Lebensmittelhyg. 29, 121 - 127

MOSSEL, D. A. A., M. VISSER und A. M. R. CORNELISSEN (1963):
The examination of foods for Enterobacteriaceae using a
test of the type generally adopted for the detection of
Salmonellae.
J. appl. Bact. 26, 444 - 452

MOSSEL, D. A. A., I. EELDERINK, M. KOOPMANS und F. VAN
ROSSEM (1979):
Influence of carbon source, bilesalts and incubation
temperature on recovery of Enterobacteriaceae from foods
using MacConkey-type agars.
J. Food Prot. 42, 470 - 475

MOSTERT, J. F. und W. H. HOLZAPFEL (1978):
Bacteriological composition of cheese starters.
South African J. Dairy Technol. 10, 121 - 123
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 41 (1979), Nr. 2619

MOTTAR, J. (1984):
Thermorésistance des bactéries psychrotrophes du lait
cru et de leurs protéinases.
Le Lait 64, 356 - 367

MOURGUES, R., L. VASSAL, J. AUCLAIR, G. MOCQUOT und
J. VANDEWEGHE (1977):
Origine et développement des bactéries coliformes dans
les fromages à pâte molle.
Le Lait 57, 131 - 149

MURRAY, J. G. (1960):

The incidence of pathogenic serotypes of *Escherichia coli* in pasteurized milk and washed bottles.

J. appl. Bact. 23, 191 - 194

OBLINGER, J. L., J. E. KENNEDEY und D. M. LANGSTON (1982):

Microflora recovered from foods on violet red bile agar and without glucose incubated at different temperatures.

J. Food Prot. 45, 948 - 952

OLSON, JR., I. C. und G. MOCQUOT (1980):

Milk and milk products.

in: International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF):

Microbial ecology of foods, Vol. II, Food commodities, p. 470 - 520

ORMAY, L. und T. NOVOTNY (1970):

Über sogenannte unspezifische Lebensmittelvergiftungen in Ungarn.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. 215, 84 - 89

OTTE, J. (1976):

Zur bakteriellen Floraanalyse in Milch und Milchprodukten mit Hilfe eines miniaturisierten Testsystems.

Diss. med. vet. Berlin

PALMER, J. (1981):

Contamination of milk from the milking environment.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 33, 307 - 316

PANDEY, G. P. und O. BRAVE (1979):

Studies on microbiological quality of Gouda cheese made from buffalo milk.

Allahabad Farmer 50, 425 - 426

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 43 (1981), Nr. 4684

PANES, J. J. und S. B. THOMAS (1959):

The multiplication of coli-aerogenes bacteria in milk stored at 3 - 5°C.

J. appl. Bact. 22, 272 - 277

DIESELBEN (1968):

Psychrophilic coli-aerogenes bacteria in refrigerated milk. A review.

J. appl. Bact. 31, 420 - 425

PAPAVASSILIOU, J. (1957):

Coli-aerogenes bacteria of pasteurized milks with special reference to pathogenic serotypes of Escherichia coli.

J. appl. Bact. 20, 91 - 94

PARK, H. S., E. H. MARTH und N. F. OLSON (1973):

Fate of enteropathogenic strains of Escherichia coli during the manufacture and ripening of Camembert cheese.

J. Milk Food Technol. 36, 543 - 546

PFLEGER, R. (1982):

Die Käsequalität unter Bedingungen hoher Luftfeuchtigkeit. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 23. Arbeitstagung, Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, p. 303 - 305

PLANINC, F. und M. MILOHNOJA (1968):

The fate of the microbial population of milk powder during storage.

Proceedings of the Sixth International Symposium on Food Microbiology, Bilthoven, the Netherlands, p. 344 - 370

POTHASHNIK, L., D. SKLAN, B. ROSEN und S. GORDEN (1972):

Coliforms and keeping quality of a Streptococcus lactis based cultured milk product.

J. Milk Food Technol. 35, 651 - 654

PUSCH, J. (1958):

Zum Keimgehalt von Säuglingstrockenmilchpulver.
Milchwiss. 13, 124 - 126

RASH, K. E. und F. V. KOSIKOWSKI (1982):

Influence of lactic acid starter bacteria on enteropathogenic Escherichia coli in ultrafiltration prepared Camembert cheese.

J. Dairy Sci. 65, 537 - 543

RAY, B. und M. L. SPECK (1978):

Plating procedure of the enumeration of coliforms from dairy products.

Appl. Environ. Microbiol. 35, 820 - 822

RICHTER, B. (1959):

Ein Beitrag zur hygienischen Prüfung von Trockenvollmilch.

Monatshefte der Veterinärmedizin 14, 612 - 615

RICHTER, R. (1981):

Microbiological problems in dairy foods in the 1980s.

J. Food Prot. 44, 471 - 475

ROBERTSON, N. H., A. DIXON und J. H. NOWERS (1974):

The influence of potassium chlorate and potassium nitrate on the growth and carbon dioxide production of certain coliform species in Gouda cheese.

South African J. Dairy Technol. 6, 105 - 111

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 36 (1974), Nr. 5855

ROEMMELE, O. (1957):

Sozialhygienische Bedenken zu den Prüfungsvorschriften von Kindertrockenmilch.

Arch. Lebensmittelhyg. 8, 110 - 111

ROEMMELE, O. und W. Westphal (1957):

Ergebnisse und Vorschläge über die hygienische Prüfung von Kindertrockenmilch.

Milchwiss. 12, 133 - 141

RUTZINSKI, J. L. und E. H. MARTH (1980):

Behavior of Enterobacter species and Hafnia species in skimmilk during fermentation by lactic acid bacteria.

J. Food Prot. 43, 720 - 728

RUTZINSKI, J. L., E. H. MARTH und N. F. OLSON (1979):

Behavior of Enterobacter aerogenes and Hafnia species during the manufacture and ripening of Camembert cheese.

J. Food Prot. 42, 790 - 793

SCHARDINGER, F. (1982):

Über das Vorkommen Gährung erregender Spaltpilze in Trinkwasser und ihre Bedeutung für die hygienische Beurteilung desselben.

Wien. Klin. Wschr. 5, 403 - 405

SCHEBLER, A. (1985):

Persönliche Mitteilung

SCHMID-LORENZ, W., Z. PUHAN und H. SPILLMANN (1983):

Enterobacteriaceen in Weichkäse.

Mikrobiologische Stufenkontrollen in einem deutschen Herstellerbetrieb.

Unveröffentlichter Bericht

SCHÖNHERR, W. (1962):

Zur hygienischen Kontrolle von Trockenmilchpräparaten.

Monatshefte der Veterinärmedizin 17, 107 - 112

VAN SCHOTHORST, M., D. A. A. MOSSEL, E. H. KAMPELMACHER und E. F. DRION (1966):

The estimation of the hygienic quality of feed components using an Enterobacteriaceae enrichment test.

Zbl. Vet. Med. B 13, 273 - 285

SCHRÖDER, M. J. A., C. M. COUSINS und C. H. McKINNON (1982):
Effect of psychrotrophic post-pasteurization contamination
on the keeping quality at 11 and 5°C of HTST-pasteurized
milk in the UK.

J. Dairy Res. 49, 619 - 630

SCHROEDER, S. A. (1967):

What the sanitarian should know about salmonellae
and staphylococci on milk and milk products.

J. Milk Food Technol. 30, 376 - 380

SCHWAB, A. H., A. SWARTZENTRUBER, B. A. WENTZ und
R. B. READ (1982):

Microbiological quality of dry-milk mixes and milk
substitute infant formulas.

Appl. Environ. Microbiol. 43, 389 - 391

SEELIGER, H. (1952):

Die Keimzahlbestimmung und Differenzierung coliformer
Bakterien in Milch und Speiseeis.

Milchwiss. 7, 389 - 394

SELENKA, F. (1967):

Hygienisch-bakteriologische Grundlagen des in der
Lebensmittelgesetzgebung angewandten Fäkalindikator-
gedankens.

Arch. Hyg. 150, 635 - 660

SELIGMANN, R. und S. ROSENBLUTH (1975):

Comparison of bacterial flora on hands of personnel
engaged in non-food and in food industries:
A study of transient and resident bacteria.

J. Milk Food Technol. 38, 673 - 677

SIEWERT, R. (1979):

Mikrobiologie von Edamer und Gouda.

Milchforschung - Milchpraxis 21, 83 - 84

SINGH, R. S. und B. RANGANATHAN (1980):

Heat resistance of *Escherichia coli* in cow and buffalo milk.

J. Food Prot. 43, 376 - 380

SKOVGAARD, N. (1968):

Standards for the microbiological quality of dried foods.

in: KAMPELMACHER, E. H., M. INGRAM und D. A. A. MOSSEL:

The microbiology of dried foods.

Proceedings of the Sixth International Symposium on

Food Microbiology, Bilthoven, the Netherlands, p. 457 - 479

SOBECK-SKAL, E. und W. BINDER (1961):

Über die kältetolerante coliforme Flora in Molkereibetrieben.

Milchwiss. Ber. 11, 225 - 233

SONNENMOSER, H. und W. KESSLER (1984):

Technologische Möglichkeiten zur Kontrolle der Coliformenflora.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 105, 1231 - 1237

SPECK, M. L. (1971):

Control of food-borne pathogenes by starter cultures.

J. Dairy Sci. 55, 1019 - 1021

STADHOUDERS, J., G. HUP und F. HASSING (1982):

The conceptions index and indicator organisms discussed on the basis of the bacteriology of spray-dried milk powder.

Neth. Milk Dairy J. 36, 231 - 260

STREICHAN, D. (1980):

Kontamination der Milch mit Salmonellen.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 87, 117 - 152

SUHREN, G., W. HEESCHEN und A. TOLLE (1976):
Keimgehalt und Haltbarkeit von Konsummilch.
Dtsch. Milchwirtschaft 27, 452 - 460

DIESELBEN (1980):

Zur hygienischen Beschaffenheit von Roh- und Trinkmilch
in der Bundesrepublik Deutschland - Eine Situations-
analyse.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 32, 165 - 185

SUKHOTSKENE, I. und T. STASAITITE (1980):

Quantitative and qualitative study of coliforms in
Dutch cheese.

Trudy, Litovskii Filial Vsesoyuznogo Nauchno-issle-
dovatel'skogo Instituta Maslodet'noi i Syrodel'noi
Promyshlennosti 14, 115 - 121, 159

ref. in: Dairy Sci. Abstr. 44 (1982), Nr. 3078

SULLIVAN, J. J. (1979):

Air microbiology and dairy processing.

Aust. J. Dairy Technol. 34, 133 - 138

SWAMINATHAN, B., M. C. HARMON und I. J. MEHLMAN (1982):

A review. Yersinia enterocolitica

J. appl. Bact. 52, 151 - 183

TACKET, C. O., I. P. NAIRAN, R. SATTIN, I. P. LOTGREN,
C. KÖNIGSBERG, R. C. RENDTORFF, A. RAUSA, B. R. DAVIS
und M. L. COHEN (1984):

A multistate outbreak of infections caused by yersinia
enterocolitica transmitted by pasteurized milk.

J. Am. med. Ass. 251, 483 - 486

TAKACS, J., J. LENDVAI und A. ABD-EL-BAKEY (1979a):

Comparative study for coliform-count on solid and
fluid media.

Arch. Lebensmittelhyg. 30, 41 - 43

DIESELBEN (1979b):

Correlation between coliform and enterobacteriaceae count in raw and retailed milk.

Arch. Lebensmittelhyg. 30, 44 - 46

TEIPEN, O. (1982):

Qualitätssicherung von Käse.

Dtsch. Milchwirtschaft 33, 1726 - 1731

TERPLAN, G. (1978):

Enterobacteriaceen in Milchtrockenprodukten.

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 19. Arbeitstagung; Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen

DERSELBE (1980):

Die Bedeutung von Wasser bei der Milchproduktion und -verarbeitung.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 172, 96 - 104

TERPLAN, G., H.-U. WIESNER und H. HESSE (1960):

Zur Reinigung und Desinfektion von Rohrmelkanlagen.

Der Effekt getrennter und kombinierter Verfahren

bei von Hand und von Automaten gesteuerter Spülung.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 84 - 94

TERPLAN, G., H.-U. WIESNER und K.-J. ZAADHOF (1966):

Optimale Methoden für die Bestimmung von Gesamtkeimzahl, coliformen Keimen, Proteolyten und Clostridien in der Milch.

Milchwiss. 21, 753 - 756

TESONE, S. und F. QUEVEDO (1978):

Contrôle microbiologique du fromage.

I. Fromage à pâte molle: "Le Cuartirolo".

Le Lait 58, 43 - 56

TESONE, S., B. E. MARTINEZ und F. QUEVEDO (1981):

Contrôle microbiologique du fromage.

II. Fromage à pâte demi-dure: "Le pategras"

(Gouda argentin).

Le Lait 61, 19 - 30

TEUBER, M. (1981):

Antagonismen zwischen erwünschten und unerwünschten

Mikroben in Milch.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 33, 59 - 66

TATCHER, F. S. und D. S. CLARK (1968):

Microorganisms in foods: Their significance and methods
of enumeration.

University of Toronto Press, Toronto, Buffalo

THOMAS, S. B. (1958):

Psychrophilic micro-organisms in milk and dairy products

- part 1.

Dairy Sci. Abstr. 20, Sp. 355 - 370

DERSELBE (1974):

zit. nach COUSIN, M. A. (1982):

Presence and activity of psychrotrophic microorganisms
in milk and dairy products: A review.

J. Food Prot. 45, 172 - 207

THOMPSON, S. S., L. G. HARMON und C. M. STINE (1978):

Survival of selected organisms during spray drying of
skim milk and storage of nonfat dry milk.

J. Food Prot. 41, 16 - 19

TOLLE, A. (1979):

Bacterial association and metabolic activity in milk
and dairy products.

Arch. Lebensmittelhyg. 30, 84 - 87

DERSELBE (1983):

Hygiene der Milch.

in: GRAVERT, H. O. (Hrsg.): Die Milch, Erzeugung,
Gewinnung, Qualität, p. 211 - 306

Verl. Eugen Ulmer, Stuttgart

TOLLE, A. und G. SUHREN (1982):

Pasteurisierte Konsummilch - Keimvermehrung und
Grenzwerte für die Haltbarkeit.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 102, 728 - 734

TOLLE, A. und W. G. WHITTLESTONE (1976):

Grundlagen der Hygiene der Milchgewinnung.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 28, 81 - 228

TOLLE, A., I. OTTE und G. SUHREN (1981):

Zur Dynamik der produktspezifischen Keimflora und von
coliformen Keimen/E. coli während des Herstellungs-
prozesses von Camembertkäse.

Milchwiss. 36, 5 - 9

TOLLE, A., G. SUHREN und G. HAHN (1984a):

Coliforme Keime in Weichkäse.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 105, 1226 - 1230

TOLLE, A., G. SUHREN und D. PROKOPEK (1984b):

Zur Beeinflussung des Wachstums coliformer Keime in
Camembert-Käse.

Arch. Lebensmittelhyg. 35, 104 - 106

TOLLE, A., W. HEESCHEN, J. REICHMUTH und H. KIND (1971):

Trinkmilch in der Bundesrepublik Deutschland: Eine
Untersuchung zum bakteriologischen, biochemischen und
rückstandsanalytischen Status.

Kieler Milchw. Forsch. Ber. 23, 339 - 456

TOLLE, A., I. OTTE, G. SUHREN und W. HEESCHEN (1980):
Zur Mikroflora von Camembert.
Milchwiss. 35, 21 - 25

TOLLE, A., G. SUHREN, I. OTTE und W. HEESCHEN (1979):
Zur Bakteriologie und Sensorik der pasteurisierten
Trinkmilch.
Milchwiss. 34, 406 - 410

UZELAC, G. (1978):
Die Überlebensfähigkeit von Bakterien fäkalen Ursprungs
in Trockenprodukten in Abhängigkeit von der Wasser-
aktivität. 3. Mitt.
Dtsch. Lebensmittel-Rundschau 74, 228 - 229

UZELAC, G. und B. STILLE (1977):
Die Überlebensfähigkeit von Bakterien fäkalen Ursprungs
in Trockenprodukten in Abhängigkeit von der Wasseraktivität. 2. Mitt.
Dtsch. Lebensmittel-Rundschau 73, 325 - 329

VIKTOR, M. (1984):
Zur mikrobiologischen Beschaffenheit von Schnittkäse:
Erhebungen sowie Verlaufsuntersuchungen in Abhängigkeit
von chemischen Parametern.
Diss. med. vet. München

DE VRIES, E. (1979):
Relatie tussen het vochtgehalte en de kwaliteit van kaas.
Voedingsmiddelentechnologie 12, 13 - 17
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 41 (1979), Nr. 7227

WAES, G. (1974):
Coliforme Bakterien oder Enterobacteriaceae in pasteu-
risierter Milch und Milchpulver.
19. Int. Milchwirtschaftskongreß, Neu Dehli, 1 D, 436 - 437

WEBER, H. und R. HAMANN (1978):

Bestimmung von coliformen Bakterien oder Enterobacteriaceen zur Beurteilung des Hygienestatus von Rohmilch.

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 19. Arbeitstagung, Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene;
Garmisch-Partenkirchen

WEISS, N. und M. BUSSE (1968):

Die Bedeutung und Zuverlässigkeit des Colititers.

Dtsch. Molkerei-Zeitung 89, 1299 - 1303

WILLIS, H., B. E. LANGLOIS, J. O'LEARY und C. L. HICKS (1982):

Chemical and microbial changes during the manufacture and aging of Bonbel and Bonbino cheeses.

Milchwiss. 37, 711 - 715

WINTERER, H. (1976):

Das Verhalten der coliformen Keime in Käse.

Milchw. Ber., Folge 49, 269 - 272

DERSELBE (1982a):

Haltbarkeitskontrolle bei verschiedenen Milchprodukten unter Anwendung von Kontaminationsnachweisen.

Milchw. Ber., Folge 72, 179 - 184

DERSELBE (1982b):

Maßnahmen zur Sicherung niedriger Keimzahlen in der Rohmilch.

Milchw. Ber., Folge 72, 232 - 234

ZAKHAROVA, N. P., N. N. KRAEVAYA und V. F. ROZDOVA (1977):

Effect of packaging cheeses in metallic containers on their quality.

Trudy, Vsesoyuznyĭ Nauchno-issledovatel'skiĭ Institut Maslodel'noĭ i Syrodel'noĭ Promyshlennosti, 21, 59 - 61, 109
ref. in: Dairy Sci. Abstr. 41 (1979), Nr. 7470

Abschließend möchte ich Herrn Prof. Dr. G. Terplan für die Überlassung des Themas danken.

Bei Herrn Dr. H. Becker bedanke ich mich für die Betreuung meiner Arbeit; aufrichtiger Dank gilt Herrn Dr. K.-J. Zaadhof für seine hilfreiche Beratung und wohlwollende Unterstützung bei der Abfassung.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. Osterkorn danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Mein Dank gilt auch Frau M. Schmidt für ihre stets gern gewährte Unterstützung.

Ferner bedanke ich mich bei Frä. G. Dodl für das Schreiben der Arbeit.

Lebenslauf

Am 6 Februar 1957 wurde ich, Hubert Diepolder, als Sohn des damaligen Studienrates Wolfgang Diepolder und seiner Frau Maria, geb. Oberst, in Freising geboren.

Nach Besuch der Volksschule Freising-Neustift trat ich im September 1967 in das Dom-Gymnasium Freising ein und legte im Juni 1976 die Reifeprüfung ab.

Von Juli 1976 bis September 1977 leistete ich den Grundwehrdienst ab und begann im Wintersemester 1977/78 das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, das ich im Dezember 1982 mit dem Staatsexamen beendete. Im Februar 1983 erhielt ich die Approbation als Tierarzt.

Im September 1984 begann ich als Veterinärreferendar den Vorbereitungsdienst für den amtstierärztlichen Dienst, den ich im November 1985 mit der 2. Staatsprüfung beendete.

